

Кононова Татьяна Евгеньевна

**ДИСБАЛАНС МАЛЫХ СУБПОПУЛЯЦИЙ Т-ЛИМФОЦИТОВ В
ИММУНОПАТОГЕНЕЗЕ ТУБЕРКУЛЕЗА ЛЕГКИХ**

3.3.3. Патологическая физиология

Автореферат

диссертации на соискание
ученой степени доктора
медицинских наук

Работа выполнена в федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Научный консультант:

доктор медицинских наук, профессор,
член корреспондент РАН

Уразова Ольга Ивановна

Официальные оппоненты:

доктор медицинских наук, профессор, академик РАН,
научный руководитель лаборатории клинико-диагностической
централизованного научно-клинического лабораторного отдела
консультативно-диагностического центра
ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина»
Минздрава России

Кушлинский Николай Евгеньевич

доктор медицинских наук, профессор,
заведующий лабораторией молекулярной-клеточной физиологии и патологии
НИИ медицинских проблем Севера –
обособленного подразделения
ФИЦ КНЦ СО РАН

Савченко Андрей Анатольевич

доктор медицинских наук, профессор,
главный научный сотрудник лаборатории иммунофармакологии
НИИ фармакологии и регенеративной медицины
им. Е.Д. Гольдберга Томского НИМЦ

Шерстобоев Евгений Юрьевич

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное учреждение «Новосибирский научно-исследовательский институт туберкулеза» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБУ «ННИИТ» Минздрава России)

Защита диссертации состоится: _____ г. на заседании диссертационного совета Д 21.2.068.01 при федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России) по адресу: 634050, г. Томск, Московский тракт, 2.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России и на сайте <http://www.ssmu.ru>

Автореферат разослан « _____ » _____ 2026 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета

Петрова Ирина Викторовна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования. Несмотря на ключевую роль *Mycobacterium tuberculosis* (*M. tuberculosis*) в этиологии туберкулеза, важное значение в его развитии отводится механизмам иммунной дисрегуляции. На данный момент не вызывает сомнений, что комплементарное и взаимодополняющее функционирование систем врожденного и адаптивного антигенспецифического иммунитета сопровождается эффективной элиминацией инфекционного агента на уровне барьерных тканей, или может приводить к латентному течению инфекционного процесса без клинических проявлений заболевания [Abraham R. et al., 2020; Safar H.A. et al., 2020; Enriquez A.B. et al., 2021; Kathamuthu G.R. et al., 2022; Li H.M. et al., 2022; Kinsella R.L. et al., 2023; Cohen S.B., Urdahl K.B., 2024]. Вместе с тем остается открытым вопрос о том, нарушение каких механизмов иммунного ответа на возбудитель способствует развитию иммунорегуляторного дисбаланса и прогрессирующему течению инфекционного процесса. Особенно актуальными являются исследования молекулярных механизмов, контролирующих баланс различных малых субпопуляций Т-лимфоцитов-хелперов (Т-helper, Th), с оценкой их взаимодействий при формировании иммунной девиации в патогенезе туберкулеза легких (ТЛ).

Клетки основных популяций лимфоцитов делятся на множество малых (минорных) субпопуляций. Одной из таких малых субпопуляций Т-лимфоцитов является клеточная линия, которая по способности к секреции интерлейкина (Interleukin, IL) 17, получила название «Th17-лимфоциты» [Жирков А.А., Алексеева Л.А. и соавт., 2021; Wu B., Wan Y., 2020; Bewket G. et al., 2022; Shi Y., Wei B., 2022; Wang X. et al., 2022; Jain R. et al., 2023]. Пристальное внимание исследователей данные клетки привлекли в первую очередь потому, что оказались главными претендентами на роль ключевых клеток-эффекторов в регуляции воспалительного процесса в патогенезе ряда аутоиммунных и инфекционных заболеваний. Установлено участие Th17-лимфоцитов в реализации защитных реакций организма при инфицировании бактериями (вне- и внутриклеточными), вирусами и грибами [Nemes E. et al., 2020; Park H.S. et al., 2021; Tomioka H. et al., 2021; Wang W. et al., 2021; Parigi T.L. et al., 2022]. Недавними экспериментальными исследованиями показано вовлечение Th17-лимфоцитов в формирование протективного иммунного ответа против *M. tuberculosis* [Franco A.R, Peri F., 2021; Fan X. et al., 2023; Guo S. et al., 2024; Ogongo P. et al., 2024; Rungelrath V. et al., 2024; Stewart E.L. et al., 2024; Sun M. et al., 2024]. Установлено, что при развитии воспалительного процесса ткани бронхоальвеолярного тракта инфильтрированы активированными и высокодифференцированными Th17-лимфоцитами, способствующими активации его барьерных функций [Liu H. et al., 2020; Bernard-Raichon L. et al., 2021; Feng J.-Y. et al., 2021; Nathan A. et al., 2021; Ogongo P. et al., 2021; Ritter K. et al., 2022; Ogongo P. et al., 2024].

Обладая фенотипической пластичностью Th17-лимфоциты способны трансформироваться в гетерогенную минорную субпопуляцию клеток – Th17/Th1-лимфоциты (Th17.1-лимфоциты). Подобно Th17-лимфоцитам, Th17/Th1-клетки участвуют в регуляции воспалительных реакций в тканях и обладают уникальными особенностями – одновременно проявлять функциональную активность Th17- и Th1-клеток [Moser T., Akgün K., 2020; Madrid-Paulino E. et al., 2022; Álvarez G.I. et al., 2023; Kiflie A. et al., 2023]. Между тем роль Th17/Th1-лимфоцитов в иммунопатогенезе ТЛ пока не изучена. Однако,

учитывая их биологическую активность, становится очевидным, что они могут являться важным компонентом контроля инфекционного процесса.

Развитие протективного иммунного ответа при инфицировании *M. tuberculosis* непосредственно связано с активацией факторов «первой линии защиты», к числу которых относится малая субпопуляция естественных регуляторных Т-лимфоцитов – $\gamma\delta$ Т-клетки. Известно, что $\gamma\delta$ Т-лимфоциты являются важным фактором врожденного иммунитета и при попадании в организм патогена одними из первых вовлекаются в инициацию и последующую реализацию и регуляцию антибактериального иммунитета [Chai Q. et al., 2020; Ribot J.C. et al., 2021; Hu Y. et al., 2023; Ma L. et al., 2023; O'Hara J.M. et al., 2023; Sun L. et al., 2023].

Несомненно, в формировании устойчивости организма к туберкулезной инфекции различные субпопуляции Т-лимфоцитов играют разную роль. Учитывая рассматриваемую в последнее время концепцию ведущей роли иммуносупрессии в развитии ТЛ и определении его прогрессирующего течения, особую актуальность приобретают исследования специализированных регуляторных клеток – Трег-лимфоцитов (Regulatory T cells, Treg). Показано, что повышение количества Трег-клеток и их функциональной активности приводит к снижению противоинфекционной защиты организма и сопровождается формированием вторичной иммунологической недостаточности, что в последующем может провоцировать прогрессирование воспалительного процесса и развитие тяжелых клинических форм заболевания [Ahmed A., Vyakarnam A., 2020; Van Dis E. et al., 2022; Yu X. et al., 2022; Pahuja I. et al., 2023].

Вместе с тем на этапах дифференцировки Трег-клетки тесно взаимосвязаны с Th17-лимфоцитами. Показано, что критическую роль в развитии «наивных» CD4⁺ Т-клеток в направлении Th17- или Трег-клеток играет цитокиновое микроокружение. Так, высокие концентрации трансформирующего фактора роста (Transforming Growth Factor, TGF) β способствуют дифференцировке регуляторных CD4⁺CD25⁺ Т-клеток, в то время как очень низкие концентрации цитокина в присутствии IL-6 благоприятствуют поляризации иммунного ответа в направлении Th17-клеток [Yan J.-B. et al., 2020; Salminen A., 2021; Le Menn G. et al., 2022; Ogongo P. et al., 2024]. На молекулярном-генетическом уровне баланс между Th17- и Трег-лимфоцитами устанавливается за счет антагонистического взаимодействия их транскрипционных регуляторов дифференцировки – факторов транскрипции Retinoic acid receptor-related orphan receptor (ROR) C2 и Forkhead Box P3 (FoxP3) соответственно. Таким образом, скоординированная активность цитокинов и экспрессия транскрипционных факторов определяют направление дифференцировки данных субпопуляций Т-лимфоцитов. Кроме того, имеются основания утверждать, что Трег- и Th17-лимфоциты, обладая антагонистическими эффектами, функционируют в тесной взаимосвязи между собой [Yan J.B. et al., 2020; Lourenço J.D. et al., 2021; Zhang S. Et al., 2021; Zhang Y. et al., 2021; Thomas R. et al., 2023; Wang J. et al., 2023].

Особого внимания заслуживает тот факт, что Th17-лимфоциты, принимая участие в защите организма от инфекции, оказались практически нечувствительными к супрессорному действию Трег-клеток. Учитывая, что клеточно-опосредованный иммунный ответ, как указывалось ранее, является необходимой составляющей эффективного контроля над туберкулезной инфекцией, участие Th17-лимфоцитов в компенсации функциональной неполноценности Th1-лимфоцитов и развитии протективных иммунных реакций

противотуберкулезной защиты не вызывает сомнений.

Между тем, принимая во внимание выраженные иммунобиологические эффекты описанных малых субпопуляций Т-лимфоцитов, сведения о механизмах, регулирующих их участие в формировании иммунного ответа при ТЛ, значени в развитии различных клинических его форм, а также факторах, определяющих их баланс при данном заболевании, имеют фрагментарный характер и остаются практически не исследованными.

Степень разработанности темы исследования. На сегодняшний день установлено, что нарушения в процессе формирования противотуберкулезного иммунитета возможны на разных его этапах. На этапе реализации механизмов врожденного иммунитета определены нарушения функций макрофагов и дендритных клеток – угнетение фагоцитарной и антигенпрезентирующей, микробицидной и цитокинсекреторной активности [Rodrigues T.S. et al., 2020; Esaulova E. et al., 2021; Herrera M.T. et al., 2022; Zha B.S. et al., 2022; Peng Y.F., 2023; Rambaran S. et al., 2023]; на этапе реализации Т-клеточного антигенспецифического иммунного ответа установлены нарушения активации Т-лимфоцитов, угнетение их цитокинсекреторной и пролиферативной активности, активация программируемой гибели [Chai Q. et al., 2020; Safar H.A. et al., 2020; Во Н. et al., 2024; Cohen S.B., Urdahl K.B., 2024; Panda S. et al., 2024; Vats D. et al., 2024; Wen Z. et al., 2024].

Относительно роли Th17-лимфоцитов в иммунопатогенезе туберкулеза имеются сведения об их выраженном регуляторном влиянии в отношении иммунокомпетентных клеток и эпителиальных клеток дыхательных путей за счет секреции IL-17A, IL-22, IL-26, фактора некроза опухоли (Tumor Necrosis Factor, TNF) α , гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора (Granulocyte Macrophage Colony Stimulating Factor, GM-CSF), а также хемокинов – CXCL (C-X-C motif Chemokine Ligand) 9, CXCL10 и CXCL11 [Feng J.-Y. et al., 2021; Li G. et al., 2021; Belpaire A. et al., 2022; Parigi T.L. et al., 2022; Xie Y. et al., 2022; Wang Y. et al., 2023]. Важным аспектом в изучении роли Th17-лимфоцитов в патогенезе ТЛ является их тесная взаимосвязь на этапах своего созревания и специализации с субпопуляцией Treg-лимфоцитов.

Результатами клинических и экспериментальных исследований установлены механизмы угнетения антигенспецифического иммунного ответа Treg-клетками за счет контактной супрессии (экспрессии молекулы CTLA-4), конкурентного связывания фактора роста – IL-2, секреции иммуносупрессорных цитокинов (TGF β , IL-10 и IL-35) и индукции апоптоза иммунокомпетентных клеток (экспрессии молекулы CD154 (FasL), секреции перфоринов и гранзимов) [Namdeo M. et al., 2020; Zhang J.A. et al., 2020; Jiang H. et al., 2021; Téllez-Navarrete N.A. et al., 2021; Sun L. et al., 2023; Thomas R. et al., 2023; Chia J.E. et al., 2024; Tang P. et al., 2024]. Вместе с тем до сих пор не определено, какие из вышеперечисленных молекулярных механизмов лежат в основе формирования иммуносупрессии при различных клинико-патогенетических вариантах ТЛ.

Необходимо отметить, что сведения о регуляции процессов дифференцировки Th17- и Treg-лимфоцитов пока – в подавляющем большинстве случаев – получены на клетках лабораторных животных. Th17-лимфоциты человека остаются менее изученными, и факторы, приводящие к активации/ингибированию транскрипционных регуляторов Th17-ответа, также пока не исследованы.

В свете указанных выше данных, понимание роли, а также сложных и динамических взаимодействий между малыми субпопуляциями Т-лимфоцитов в развитии

иммунопатологических реакций при инфицировании *M. tuberculosis* имеет значимый научный потенциал и позволит расшифровать новые механизмы реализации противотуберкулезной резистентности организма, что может послужить перспективой для практического использования результатов, в том числе разработки новых методов диагностики иммунных нарушений, целенаправленной их коррекции и вакцинопрофилактики туберкулеза.

Цель исследования: оценить механизмы дисбаланса малых субпопуляций Т-лимфоцитов в иммунопатогенезе туберкулеза легких в зависимости от клинической формы заболевания.

Задачи исследования:

1. Определить соотношение Th17- и Treg-лимфоцитов, гетерогенной субпопуляции Th17/Th1-лимфоцитов и $\gamma\delta$ T-клеток в крови у больных с инфильтративным и диссеминированным лекарственно-чувствительным и лекарственно-устойчивым туберкулезом легких.

2. Определить внеклеточные факторы дифференцировки Th17- и Treg-лимфоцитов (по секреции цитокинов – IL-1 β , IL-2, IL-6, TGF β мононуклеарными лейкоцитами крови и IL-23 дендритными клетками *in vitro*) у больных инфильтративным и диссеминированным лекарственно-чувствительным и лекарственно-устойчивым туберкулезом легких.

3. Проанализировать экспрессию генов транскрипционных факторов RORC2 и FoxP3 – внутриклеточных регуляторов дифференцировки Th17- и Treg-лимфоцитов, и установить механизмы дисбаланса данных клеточных субпопуляций у больных инфильтративным и диссеминированным лекарственно-чувствительным и лекарственно-устойчивым туберкулезом легких.

4. Оценить функциональную активность Th17-, Th17/Th1-лимфоцитов и $\gamma\delta$ T-клеток по базальной и VCG-индуцированной секреции IL-17A, IL-22, интерферона (Interferon, IFN) γ *in vitro* у больных инфильтративным и диссеминированным лекарственно-чувствительным и лекарственно-устойчивым туберкулезом легких.

5. Провести сравнительную оценку нарушений баланса и иммунорегуляторных функций малых субпопуляций Т-лимфоцитов у больных туберкулезом легких в зависимости от клинической формы заболевания и лекарственной чувствительности *M. tuberculosis*.

Научная новизна. Впервые проведено комплексное исследование молекулярно-генетических факторов дисбаланса малых субпопуляций Т-лимфоцитов крови (в том числе Th17/Treg-дисбаланса) в иммунопатогенезе туберкулеза легких с учетом клинической формы болезни (инфильтративный, диссеминированный) и в зависимости от лекарственной чувствительности возбудителя.

Установлено, что развитие инфильтративного лекарственно-чувствительного и лекарственно-устойчивого туберкулеза легких характеризуется Th17-поляризацией иммунного ответа с увеличением относительного и абсолютного количества CD4⁺CD161⁺IL-17A⁺ клеток. При этом разгар клинической картины диссеминированного туберкулеза легких в случае лекарственной резистентности возбудителя заболевания сопровождается иммунным отклонением в направлении Treg-лимфоцитов и характеризуется повышением относительного и абсолютного числа CD4⁺CD25⁺FoxP3⁺ клеток *in vitro*. Показана взаимосвязь увеличения числа хелперных Т-клеток типа 17 с внеклеточными и внутриклеточными факторами – гипосекрецией TGF β в сочетании с

гиперсекрецией IL-6 и повышением экспрессии мРНК гена транскрипционного фактора RORC2 в лимфоцитах. При этом гиперсекреция TGF β и увеличение экспрессии мРНК гена транскрипционного регулятора дифференцировки – фактора транскрипции FoxP3 – опосредует развитие Treg-клеток. Обосновано потенцирующее влияние на созревание Th17-клеток цитокинов, секретируемых мононуклеарными лейкоцитами (IL-1 β) и дендритными клетками (IL-23).

Впервые у пациентов с различными клиническими формами лекарственно-чувствительного и лекарственно-устойчивого туберкулеза легких проведен сравнительный анализ адаптивной гетерогенной субпопуляции Th17/Th1-лимфоцитов (CD4⁺IL-17A⁺IFN γ ⁺ клеток). При инфильтративном туберкулезе легких (независимо от лекарственной чувствительности *M. tuberculosis*) выявлено повышение в крови относительного и абсолютного числа Th17/Th1-лимфоцитов при снижении количества T-лимфоцитов, экспрессирующих $\gamma\delta$ T-клеточный рецептор – $\gamma\delta$ TCR⁺ клеток, являющихся одним из ключевых факторов «первой линии защиты» организма. Доказано, что повышение количества Th17-лимфоцитов и Th17/Th1-лимфоцитов в крови у больных лекарственно-чувствительным и лекарственно-устойчивым инфильтративным туберкулезом легких сочетается с базальной гиперсекрецией *in vitro* их маркерных цитокинов – IL-17A, IL-22 и IFN γ , что характеризует активацию клеток и их вовлечении в механизмы реализации противотуберкулезного иммунитета наряду с основными субпопуляциями хелперных T-лимфоцитов (Th1 и Th2). При этом гиперсекреция указанных цитокинов у пациентов с диссеминированным туберкулезом легких, с наибольшей выраженностью при лекарственно-резистентной форме заболевания в случае секреции IL-17A, как базальной, так и после индукции антигеном – вакцинным штаммом BCG (*Bacillus Calmette–Guérin*), свидетельствуют о вкладе других иммунокомпетентных клеток крови, в частности $\gamma\delta$ T-лимфоцитов, в реализацию протективных иммунных реакций.

Теоретическая и практическая значимость работы. Полученные данные фундаментального характера расширяют имеющиеся на данный момент сведения об особенностях иммунопатогенеза туберкулеза легких и вносят дополнительный вклад в формирование целостного представления о молекулярно-генетических механизмах структурно-функциональной поляризации малых субпопуляций T-лимфоцитов и иммунного Th17/Treg-дисбаланса в процессе реализации противoinфекционного иммунитета на уровне факторов транскрипции и иммунорегуляторных цитокинов. Результаты оценки факторов, определяющих дифференцировку, баланс и функциональную активность Th17-лимфоцитов и Treg-клеток, а также Th17/Th1-лимфоцитов и $\gamma\delta$ T-клеток при различных клинических формах туберкулеза легких представляются значимыми как с позиции новых знаний о механизмах иммунного отклонения, так и послужат основой для разработки новых технологических приемов диагностики патологического течения иммунного ответа и поиска молекулярных мишеней фармакологического воздействия. Полученные новые данные имеют важное практическое значение, прежде всего, для пациентов с диссеминированным туберкулезом легких, выделяющих *M. tuberculosis*, резистентные к средствам противотуберкулезной терапии, и обосновывают целесообразность применения иммунокоррекции в комплексной терапии заболевания, обоснованной с позиций знаний о закономерностях его иммунопатогенеза.

Результаты настоящей работы используются в учебном процессе в подразделениях

ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России – на кафедре патофизиологии в тематических разделах дисциплин «Патофизиология, клиническая патофизиология» (на врачебных факультетах для специальностей 31.05.01 Лечебное дело и 31.05.02 Педиатрия), «Патология (патологическая физиология)» (в ординатуре для укрупненной группы специальностей 31.00.00 Клиническая медицина) и на кафедре фтизиатрии и пульмонологии в тематических разделах дисциплины «Фтизиатрия» (на врачебных факультетах для специальностей 31.05.01 Лечебное дело и 31.05.02 Педиатрия).

Методология и методы исследования. Для реализации поставленных задач в исследование были включены пациенты с впервые выявленным туберкулезом легких, а также здоровые добровольцы. В качестве материала для исследований использовали венозную кровь. В работе применялись молекулярно-генетические методы для оценки экспрессии генов транскрипционных факторов (сорбентно-колоночный метод для выделения тотальной РНК из мононуклеарных лейкоцитов; реакция обратной транскрипции для синтеза комплементарной ДНК на матрице РНК; метод полимеразной цепной реакции в режиме реального времени для определения экспрессии генов транскрипционных факторов RORC2 и FoxP3 в лимфоцитах), культуральные и иммунологические методы со стимуляцией лимфоцитов к внутриклеточной продукции цитокинов для типирования клеток и с индукцией мононуклеарных лейкоцитов к внеклеточной (в культуральную среду) секреции цитокинов поляризации Т-клеточной дифференцировки, а также для трансформации моноцитов крови в дендритные клетки (метод градиентного центрифугирования для выделения мононуклеарных лейкоцитов из цельной крови и последующей экстракции моноцитов из взвеси мононуклеарных лейкоцитов; культуральный метод для инкубирования мононуклеарных лейкоцитов крови в присутствии и без индуктора вакцинного штамма BCG; для стимуляции лимфоцитов к внутриклеточной продукции цитокинов в присутствии коктейля, содержащего 4-форбол-12-миристат-13-ацетат и иономицин; трансформации моноцитов крови в дендритные клетки с использованием рекомбинантных цитокинов – IL-4 и GM-CSF и липополисахарида; метод проточной цитофлуориметрии для иммунофенотипирования Th17-лимфоцитов (определение экспрессии поверхностных рецепторных молекул CD4, CD161 и внутриклеточного цитокина IL-17A), Th17/Th1-лимфоцитов (определение экспрессии поверхностного рецептора CD4 и внутриклеточных цитокинов IL-17A и IFN γ), Treg-клеток (определение экспрессии поверхностных рецепторов CD4, CD25 и внутриклеточного маркера фактора транскрипции FoxP3), $\gamma\delta$ T-лимфоцитов (определение экспрессии поверхностного $\gamma\delta$ T-клеточного рецептора); иммуноферментный анализ базальной и антиген-индуцированной (после инкубации с вакцинным штаммом BCG) секреции цитокинов мононуклеарными лейкоцитами крови (IL-1 β , IL-2, IL-6, IL-17A, IL-22, IFN γ , TGF β) и трансформированными из моноцитов крови дендритными клетками (IL-23) *in vitro*). Статистический анализ полученных результатов осуществлялся с использованием пакета прикладных программ «Statistica for Windows» Version 8.0.

Исследования выполнялись на базе научно-образовательной лаборатории молекулярной медицины кафедры патофизиологии и Центральной научно-исследовательской лаборатории ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России.

Положения, выносимые на защиту:

1. При туберкулезе легких дисбаланс малых субпопуляций Т-лимфоцитов (Th17, Treg, Th17/Th1, $\gamma\delta$ T) в крови связан с клинической формой заболевания. При инфильтративном

туберкулезе легких поляризация иммунного ответа развивается по типу Th17, а при диссеминированном туберкулезе легких – в направлении Treg-лимфоцитов, что подтверждается данными корреляционного и многомерного факторного анализов.

2. Развитие Th17-фенотипа Т-клеток с повышением экспрессии мРНК гена фактора транскрипции RORC2 в лимфоцитах при инфильтративном туберкулезе легких опосредовано дефицитом секреции TGF β в сочетании гиперсекрецией IL-6.

3. Иммунное отклонение в направлении Treg-лимфоцитов с увеличением экспрессии мРНК гена фактора транскрипции FoxP3 в лимфоцитах при диссеминированном туберкулезе легких определяется при наличии лекарственной устойчивости возбудителя заболевания и связано с гиперсекрецией TGF β на фоне дефицита секреции IL-2.

4. Th17-поляризация иммунного ответа при инфильтративном туберкулезе легких формируется вследствие увеличения количества и активации цитокин-секреторной функции CD4⁺CD161⁺IL17A⁺ (Th17) и CD4⁺IL-17A⁺IFN γ ⁺ (Th17/Th1) лимфоцитов в условиях дефицита $\gamma\delta$ Т-клеток в крови.

5. Отсутствие IL-17A/IL-22-секреторного *in vitro* ответа малых субпопуляций хелперных Т-лимфоцитов на индукцию антигеном у больных инфильтративным и диссеминированным туберкулезом легких свидетельствует об истощении резерва Th17-механизмов противотуберкулезной защиты.

6. Активация провоспалительной функции $\gamma\delta$ Т-клеток врожденного иммунитета у больных диссеминированным туберкулезом легких сопровождается гиперсекрецией цитокинов IL-17A и IFN γ .

Степень достоверности и апробация результатов. Полученные результаты обладают высокой степенью достоверности, что подтверждается достаточным объемом клиничко-лабораторного материала и количеством исследований, проведенных *in vitro* с использованием современных методических приемов и высокоинформативных методов, включая проточную цитофлуориметрию, полимеразную цепную реакцию в режиме реального времени, иммуноферментный анализ, а также высокотехнологичного оборудования и корректных критериев для статистической обработки результатов.

Основные положения диссертации докладывались и обсуждались: на XVIII Межгородской конференции молодых ученых «Актуальные проблемы патофизиологии» (Санкт-Петербург, 2012); Научно-практической конференции с международным участием, посвященной памяти член-корр. РАМН, профессора А.К. Стрелиса «Достижения в лечении множественно лекарственно-устойчивого туберкулеза (10-летний опыт)» (Томск, 2012); XIX Межгородской конференции молодых ученых «Актуальные проблемы патофизиологии» (Санкт-Петербург, 2013); Пятой международной научно-практической конференции «Высокие технологии, фундаментальные и прикладные исследования в физиологии и медицине» (Санкт-Петербург, 2013); III Международной научно-практической конференции «Медицина: актуальные вопросы и тенденции развития» (Краснодар, 2013); Юбилейной XX всероссийской конференции молодых ученых с международным участием «Актуальные проблемы патофизиологии – 2014» (Санкт-Петербург, 2014); III Конгрессе Национальной ассоциации фтизиатров (Санкт-Петербург, 2014); XV Всероссийском научном Форуме с международным участием имени академика В.И. Иоффе «Дни иммунологии в Санкт-Петербурге» (Санкт-Петербург, 2015); V Конгрессе Национальной ассоциации фтизиатров (Санкт-Петербург, 2016); IV Ежегодной научной

конференции, посвященной Дню Российской науки (Новосибирск, 2016); Калининградском научном форуме (Калининград, 2016); XVI Всероссийском научном Форуме с международным участием имени академика В.И. Иоффе «Дни иммунологии в Санкт-Петербурге» (Санкт-Петербург, 2017); Всероссийской научно-практической конференции, посвященной 130-летию кафедры патофизиологии Императорского (государственного) томского университета – Томского медицинского института – Сибирского государственного медицинского университета «Типовые патологические процессы: современные тренды в науке» (Томск, 2020); II Всероссийской заочной научно-практической конференции с международным участием, посвященной 110-летию кафедры патологической физиологии имени академика А.А. Богомольца и памяти профессора Н.П. Чесноковой «Актуальные проблемы патологии: теоретические и клинические аспекты» (Саратов, 2021); Юбилейной всероссийской научно-практической конференции «Фтизиатрия в XXI веке: взгляд в будущее», посвященной 80-летию Новосибирского научно-исследовательского института туберкулеза (Новосибирск, 2023); I Евразийском конгрессе по патофизиологии (Москва, 2024), Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Нейрогуморальные механизмы регуляции физиологических функций в норме и при патологии» (Томск, 2025).

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства образования и науки Российской Федерации (государственный контракт №16.512.11.2046), Российского фонда фундаментальных исследований (проект №11-04-98057-р_сибирь_a), Совета по грантам Президента Российской Федерации для поддержки ведущих научных школ (гранты НШ-614.2012.7, НШ-4184.2014.7, НШ-2690.2018.7).

Объем и структура работы. Диссертация изложена на 213 страницах, состоит из введения, четырех глав, включающих обзор литературы, описание объекта, материала и методов исследований, собственных результатов и их обсуждение, выводов, списка сокращений и литературы. Работа иллюстрирована 26 рисунками и 20 таблицами. Библиографический список включает 442 источника, в том числе 48 отечественных и 394 зарубежных авторов.

Публикации. По материалам диссертации опубликовано 28 работ, из них 18 – в научных журналах, включенных в перечень рекомендованных ВАК при Минобрнауки России рецензируемых научных изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени доктора наук и индексируемых в международных базах цитирования Scopus (9 статей) и WoS (4 статьи), 9 статей и тезисов в материалах конференций, форумов, конгрессов, съездов и 1 глава в монографии.

Личное участие автора в получении результатов, изложенных в диссертации. Соискатель принимал непосредственное участие в разработке научной идеи, постановке цели и задач диссертации, отработке методических приемов, организации и проведении экспериментальных работ. Лабораторные исследования проводились соискателем лично или при его прямом участии. Результаты получены, статистически обработаны и обсуждены автором самостоятельно. На их основе соискателем подготовлены к публикации материалы по теме диссертации (тезисы, статьи) – полностью или их разделы в соавторстве.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Во введении обоснована актуальность темы диссертации, определена цель и основные задачи исследования, научная новизна, теоретическая и практическая значимость работы, сформулированы положения, выносимые на защиту.

В первой главе диссертации представлен анализ современной научной литературы по теме диссертации, включающий в себя обсуждение вопросов о роли малых субпопуляций Т-лимфоцитов в формировании иммунного ответа при инфицировании *M. tuberculosis*. Дана характеристика минорной субпопуляции клеток – Th17-лимфоцитам. Описаны молекулярно-генетические факторы, определяющие их дифференцировку, а также основные цитокины, играющие важное значение в формировании протективного иммунного ответа при ТЛ. Отражена взаимосвязь на этапах дифференцировки и пролиферации Th17-лимфоцитов со специализированными регуляторными клетками, обладающими супрессорной активностью – Treg-лимфоцитами. Охарактеризованы механизмы реализации Treg-клетками иммуносупрессорной функции. Проанализирована роль гетерогенных клеток – Th17/Th1-лимфоцитов и факторов «первой линии защиты» – $\gamma\delta$ T-клеток в иммунопатогенезе ТЛ. Определена роль гомеостаза в структуре малых субпопуляций Т-лимфоцитов в целостном и скоординированном процессе ограничения распространения и эрадикации *M. tuberculosis* в организме.

Во второй главе диссертации описаны объект, материал и методы исследования. В работу включены результаты обследования 179 пациентов, имеющих распространенные (более 4-х сегментов) деструктивные формы впервые выявленного ТЛ (123 мужчин и 56 женщин в возрасте от 20 до 55 лет, средний возраст $41,57 \pm 10,21$ лет). Пациенты на момент включения в исследование находились в состоянии, соответствующем активной фазе (разгар клинической картины) заболевания, и были госпитализированы для прохождения стационарного лечения в ОГАУЗ «Томский фтизиопульмонологический медицинский центр». Все пациенты были разделены на группы в зависимости от клинической формы инфекционно-воспалительного процесса – с инфильтративным (98 (54,75%) больных) и диссеминированным (81 (45,25%) больной) ТЛ. Внутри данных групп были сформированы две подгруппы в зависимости от чувствительности/резистентности *M. tuberculosis* к средствам противотуберкулезной терапии – с лекарственно-чувствительным (ЛЧ) (61 (34,08%) пациент с ЛЧ инфильтративным и 52 (29,05%) пациента с ЛЧ диссеминированным ТЛ) и лекарственно-устойчивым (ЛУ) (37 (20,67%) пациентов с ЛУ инфильтративным и 29 (16,20%) пациентов с ЛУ диссеминированным ТЛ) ТЛ. Критериями исключения пациентов с ТЛ из исследования являлись: возраст менее 20 или более 55 лет; проведение вакцинации/ревакцинации вакцинным штаммом BCG (*Bacillus Calmette–Guérin*) и другими вакцинами в течение 3-х лет, предшествующих исследованию; инфицирование вирусами гепатита и ВИЧ; перенесенная инфекция (менее 3-х месяцев назад); наличие острых и хронических (в стадии обострения) сопутствующих инфекционных и соматических заболеваний, аллергических и аутоиммунных болезней; применение иммуномодулирующих препаратов и глюкокортикоидов; отказ от исследования. Исследования у больных ТЛ проводились однократно, до начала проведения противотуберкулезной терапии. Группу сравнения составили 55 здоровых добровольцев с аналогичным группой исследования распределением по полу и возрасту.

Материалом для исследования являлась венозная кровь пациентов. Взятие крови осуществляли утром натощак из локтевой вены в количестве 10 мл в вакуумные системы «BD Vacutainer», содержащие антикоагулянт гепарин. Для генетических методов исследования кровь собирали в вакуумные системы, содержащие антикоагулянт K_2 -ЭДТА (этилендиаминтетраацетат).

Методом градиентного центрифугирования выделяли мононуклеарные лейкоциты из цельной крови и осуществляли последующую экстракцию моноцитов из взвеси мононуклеарных лейкоцитов. Культуральный метод использовали для инкубирования мононуклеарных лейкоцитов крови в присутствии и без индуктора вакцинного штамма BCG в течение 48 ч и трансформации моноцитов крови в дендритные клетки с использованием рекомбинантных цитокинов – GM-CSF и IL-4, и липополисахарида (сроки культивирования и дозы стимуляторов определяли экспериментально). Зрелые дендритные клетки образовывались на 6-е сутки культивирования.

Методом проточной цитофлуориметрии определяли субпопуляции малых Т-лимфоцитов. Для определения внутриклеточных цитокинов клетки предварительно стимулировали коктейлем, содержащим 4-форбол-12-миристат-13-ацетат и иономицин, добавляя блокатор внутриклеточного транспорта протеинов с моненсином. Иммунофенотипирование Th17-лимфоцитов осуществляли по экспрессии поверхностных рецепторных молекул CD4, CD161 и внутриклеточного цитокина IL-17A ($CD4^+CD161^+IL-17A^+$ клетки), Th17/Th1-лимфоцитов по экспрессии поверхностного рецептора CD4 и внутриклеточных цитокинов IL-17A и IFN γ ($CD4^+IL-17A^+IFN\gamma^+$ клетки), Treg-клеток по экспрессии поверхностных рецепторов CD4, CD25 и внутриклеточного маркера фактора транскрипции FoxP3 ($CD4^+CD25^+FoxP3^+$ клетки), $\gamma\delta$ T-лимфоцитов по экспрессии поверхностного $\gamma\delta$ T-клеточного рецептора ($\gamma\delta TR^+$ клетки). Иммунофенотип дендритных клеток определяли по экспрессии поверхностной рецепторной молекулы CD209.

Для определения экспрессии генов транскрипционных факторов RORC2 и FoxP3 в лимфоцитах предварительно выделяли тотальную РНК из культуры мононуклеарных лейкоцитов сорбентно-колоночным методом, далее на матрице РНК проводили синтез комплементарной ДНК, используя реакцию обратной транскрипции, с последующим проведением полимеразной цепной реакции (ПЦР) в режиме реального времени для количественного определения мРНК генов RORC2, FOXP3. В качестве референсного гена использовали ген β -ACTIN. Праймеры, применяемые для оценки экспрессии генов, разработаны на основе последовательностей, представленных в GenBank, с использованием программного обеспечения Primer Express.

Иммуноферментный анализ использовали для оценки базальной и антиген-индуцированной (после инкубации с вакцинным штаммом BCG) секреции цитокинов мононуклеарными лейкоцитами крови (IL-1 β , IL-2, IL-6, IL-17A, IL-22, IFN γ , TGF β) и дендритными клетками (IL-23) *in vitro*.

Статистическую обработку результатов исследования осуществляли с использованием пакета прикладных программ «Statistica for Windows» Version 8.0. Проверку гипотезы о нормальном законе распределения признака осуществляли с использованием критерия Шапиро-Уилка. Оценку достоверности различий выборок, не подчиняющихся критерию нормального распределения, осуществляли непараметрическим Т-критерием Вилкоксона для зависимых выборок и непараметрическим U-критерием Манна-Уитни для

независимых выборок. Для установления взаимосвязи между признаками применяли корреляционный анализ с вычислением коэффициента ранговой корреляции Спирмена (r). Для определения структуры взаимосвязи (выявления скрытых закономерностей) между изучаемыми количественными признаками применяли многомерный факторный анализ (метод главных компонент). Результаты анализа считали статистически значимыми при p -уровне менее 0,05 ($p < 0,05$).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В результате проведенного исследования установлено, что течение инфильтративного ТЛ сопровождалось увеличением относительного и абсолютного числа Th17-лимфоцитов ($CD4^+CD161^+IL-17A^+$ клеток) в крови вне зависимости от чувствительности возбудителя заболевания к средствам этиотропной терапии относительно соответствующих показателей в группе здоровых добровольцев. При этом у пациентов с диссеминированной формой заболевания количество (относительное и абсолютное) Th17-лимфоцитов оказалось в пределах контрольных значений. Обращал на себя внимание разнонаправленный характер изменений исследуемого показателя при лекарственной резистентности *M. tuberculosis* – наиболее выраженное повышение при инфильтративной клинической форме и снижение (относительно аналогичных значений у пациентов с инфильтративным ТЛ) при диссеминированном ТЛ (Рисунок 1).

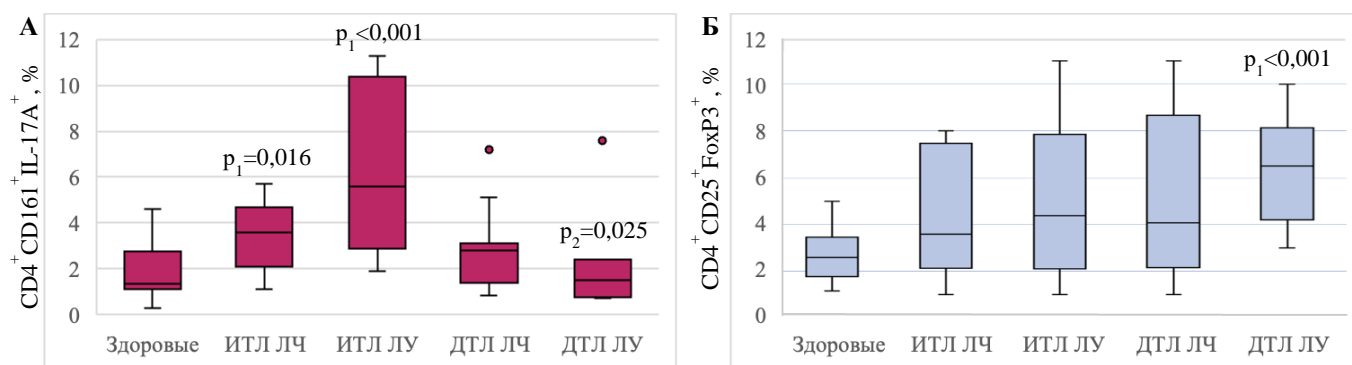


Рисунок 1 – Содержание малых субпопуляций Т-лимфоцитов в крови у больных ТЛ: А – количество Th17-лимфоцитов ($CD4^+CD161^+IL-17A^+$ клеток); Б – количество Treg-лимфоцитов ($CD4^+CD25^+FoxP3^+$ клеток)

Примечание. Здесь и далее на рисунках и в таблицах: ИТЛ – инфильтративный ТЛ, ДТЛ – диссеминированный ТЛ, ЛЧ – лекарственно-чувствительный, ЛУ – лекарственно-устойчивый, p_1 – уровень статистической значимости различий по сравнению с показателями у здоровых добровольцев, p_2 – по сравнению с показателем у больных ИТЛ.

Очевидно, что при различных клинических формах ТЛ развитие воспалительного процесса в ткани легкого проявляется разным уровнем его активности и прогрессирования. Так, инфильтративный ТЛ, являясь начальным этапом воспалительного процесса, характеризуется меньшей степенью выраженности не только клиничко-рентгенологических проявлений заболевания, но и нарушений показателей иммунитета по сравнению с другими формами туберкулеза (диссеминированной, казеозной пневмонией).

В свою очередь, диссеминированный ТЛ характеризуется тяжелым течением инфекционного процесса и ввиду гематогенного и/или лимфогенного распространения инфекции сопровождается большим объемом поражения ткани легкого и чаще приводит к развитию осложнений и летальных исходов. У таких пациентов функциональные свойства иммунокомпетентных клеток крови страдают в большей степени. В этой связи вполне закономерным является выявленное в настоящем исследовании отсутствие ответа со стороны Th17-лимфоцитов в разгар клинического течения диссеминированного ТЛ на фоне повышения как относительного (6,50 (4,20–8,15) %, $p_1=0,006$), так и абсолютного ($0,124 (0,082-0,159) \times 10^9/\text{л}$, $p_1=0,027$) содержания Treg-лимфоцитов ($\text{CD4}^+\text{CD25}^+\text{FoxP3}^+$ клеток) в крови в случае лекарственной устойчивости возбудителя заболевания по сравнению с показателями в группе контроля (2,59 (1,76–3,46) %, $0,051 (0,034-0,079) \times 10^9/\text{л}$ соответственно) (Рисунок 1).

Баланс малых популяций Th17- и Treg-лимфоцитов в организме находится под строгим контролем и зависит от многих факторов. Помимо силы антигенной стимуляции и эффективности взаимодействия антигенпрезентирующей клетки с «наивными» CD4^+ Т-лимфоцитами важное значение имеют цитокиновое микроокружение, определяющее последующую активацию сигнальных путей, и скоординированная работа транскрипционных факторов. Критическая роль в процессе поляризации иммунного ответа в направлении Th17- или Treg-лимфоцитов отводится противовоспалительному цитокину – TGF β . Предполагается, что в сочетании с IL-6 и IL-1 β данный цитокин приводит к дифференцировке «наивных» CD4^+ Т-лимфоцитов в направлении Th17-клеток, тогда как в сочетании с IL-2 TGF β способствуют поляризации Th0-лимфоцитов в направлении Treg-клеток. Примечательно, что в реализации TGF β -опосредованных сигнальных путей принципиальное значение имеет концентрация цитокина в окружении клеток, проходящих этапы дифференцировки [Feng J.-Y. et al., 2021; Ravesloot-Chávez M.M. et al., 2021; Wang W. et al., 2021; Wu B. et al., 2021; Gu Z. et al., 2022; Le Menn G. et al., 2022; Rasouli S. et al., 2023].

В результате исследования *in vitro* секреции цитокинов, определяющих дифференцировку Th17- и Treg-лимфоцитов, установлено выраженное снижение концентрации TGF β в супернатантах суспензионной культуры мононуклеарных лейкоцитов у пациентов с инфильтративным лекарственно-устойчивым ТЛ и, напротив, значительное повышение исследуемого показателя при диссеминированном лекарственно-резистентном варианте заболевания (Таблица 1). Именно в этих группах исследования регистрировались наиболее выраженные изменения количества Th17- и Treg-лимфоцитов, а именно повышение числа Th17-лимфоцитов (при инфильтративном) и Treg-лимфоцитов (при диссеминированном) лекарственно-устойчивом ТЛ.

Исследование *in vitro* секреции IL-6 позволило установить достоверное ее повышение в разгар клинического течения инфильтративного лекарственно-чувствительного и лекарственно-устойчивого ТЛ. В свою очередь, при диссеминированном ТЛ концентрация IL-6, секретлируемого мононуклеарными лейкоцитами крови, соответствовала значениям в группе здоровых добровольцев (Таблица 1).

Таблица 1 – Секретция *in vitro* цитокинов, определяющих дифференцировку Th17- и Трег-лимфоцитов у больных ТЛ

Концентрация цитокинов, пг/мл	Здоровые доноры	Инфильтративный ТЛ		Диссеминированный ТЛ		
		ЛЧ	ЛУ	ЛЧ	ЛУ	
TGFβ	Базальная	929,10 (739,20–1398,30)	1037,12 (715,42–1257,74)	739,40 (337,20–953,60) p ₁ =0,042; p ₃ =0,041	1189,17 (917,23–1421,37)	1759,30 (1091,10–2529,50) p ₁ =0,012; p ₂ <0,001
	BCG-индуцированная	1058,20 (757,30–1407,50)	1123,70 (951,30–1251,90)	658,10 (235,20–819,40) p ₁ =0,044; p ₃ =0,029	792,30 (603,20–1019,50) p ₂ =0,033; p ₄ =0,011	1903,30 (917,31–2673,82) p ₂ =0,011; p ₃ =0,021
IL-6	Базальная	215,50 (139,50–278,30)	291,40 (269,20–328,80) p ₁ =0,026	271,35 (252,20–289,50) p ₁ =0,019	259,78 (228,44–278,12)	265,70 (203,70–321,80)
	BCG-индуцированная	219,10 (145,70–274,40)	281,30 (271,50–293,70) p ₁ =0,041	256,90 (224,65–271,10) p ₃ =0,049	263,30 (226,15–301,25)	289,50 (118,60–319,40)
IL-1β	Базальная	319,10 (301,40–343,50)	337,80 (325,20–374,60)	335,70 (321,10–379,50)	321,10 (313,70–378,30)	327,20 (314,60–357,80)
	BCG-индуцированная	337,50 (315,80–368,30)	339,20 (326,50–363,80)	341,40 (327,30–351,40)	319,20 (307,20–338,40)	329,10 (319,40–359,20)
IL-2	Базальная	25,28 (14,67–31,65)	12,90 (10,81–28,09) p ₁ =0,034	17,04 (10,56–23,01) p ₁ =0,046	17,31 (6,74–27,58) p ₁ =0,048	12,54 (9,91–14,26) p ₁ =0,012
	BCG-индуцированная	115,20 (24,35–151,70) p ₄ =0,038	23,30 (13,54–28,54) p ₁ =0,022	16,89 (10,96–30,50) p ₁ =0,008	19,26 (9,91–35,09) p ₁ =0,016	13,82 (9,91–15,90) p ₁ =0,009

Примечание. Здесь и в таблице 2: p₃ – уровень статистической значимости различий по сравнению с показателями у больных ЛЧ ТЛ, p₄ – по сравнению с базальной секцией.

Присутствие в среде ИЛ-6 является ключевым фактором в регуляции дифференцировки Th17-лимфоцитов. Активируя STAT3-зависимый путь данный цитокин приводит к поляризации иммунного ответа в направлении Th17-лимфоцитов, что подтверждается результатами настоящего исследования – на фоне гиперсекреции ИЛ-6 *in vitro* регистрировалось повышение относительного и абсолютного количества Th17-клеток в крови (при положительной их взаимосвязи $r=0,88$; $p<0,05$ и $r=0,96$; $p<0,05$ соответственно) у пациентов с инфильтративным ТЛ.

In vitro секреция ИЛ-1 β у пациентов с ТЛ вне зависимости от кинического течения (инфильтративный и диссеминированный) и чувствительности *M. tuberculosis* к противотуберкулезным средствам (лекарственно-чувствительный и лекарственно-устойчивый) соответствовала уровню у здоровых индивидуумов (Таблица 1). Предполагается, что ИЛ-1 β принимает участие не только в инициации дифференцировки, но и в поддержании фенотипа и пролиферации клеток, уже поляризованных в направлении Th17. Кроме того, ИЛ-1 β и ИЛ-6 способны стимулировать дифференцировку Th17-лимфоцитов за счет подавления TGF β -индуцированной экспрессии транскрипционного фактора FoxP3 [Zhang S., 2018; Robert M. et al., 2022].

Еще одним цитокином, оказывающим влияние на развитие Th17-лимфоцитов, является продукт дендритных клеток и макрофагов – ИЛ-23. При исследовании *in vitro* секреции ИЛ-23 дендритными клетками установлено ее снижение у пациентов с диссеминированным ТЛ как в случае лекарственной чувствительности (323,20 (273,10–337,40) пг/мл, $r_1=0,018$), так и в случае лекарственной резистентности (466,20 (189,60–573,00) пг/мл, $r_1=0,049$) возбудителя заболевания к средствам этиотропной терапии. При этом у пациентов с инфильтративным лекарственно-чувствительным (1061,50 (700,65–1770,50) пг/мл, $r_2=0,005$) и лекарственно-устойчивым (1147,50 (725,70–1949,50) пг/мл, $r_2=0,047$) ТЛ секреция ИЛ-23 дендритными клетками была сопоставимой с показателем у здоровых доноров (1246,55 (435,90–1756,00) пг/мл), но оказалась выше соответствующих значений у пациентов с диссеминированной формой заболевания. Поскольку рецептор к ИЛ-23 появляется не сразу, а после начала дифференцировки «наивных» CD4⁺ Т-лимфоцитов в направлении Th17-клеток, скорее всего, роль данного цитокина следует рассматривать в стабилизации фенотипа и поддержании жизнеспособности Th17-лимфоцитов на заключительном этапе их дифференцировки, а также в увеличении количества, созревании и функциональной активности уже дифференцированных клеток [Yan J.-В. et al., 2020; Guo K., Zhang X., 2021; Ritter K. et al., 2021; Ogongo P. et al., 2023].

Как указывалось выше, в процессе поляризации «наивных» CD4⁺ Т-лимфоцитов в направлении Treg-клеток важное значение имеет TGF β . Присутствие высоких концентраций данного цитокина в микроокружении клеток на самых ранних этапах их развития способствует экспрессии главного регулятора дифференцировки Treg-лимфоцитов – фактора транскрипции FoxP3 [Le Menn G. et al., 2022; Xie Y. et al., 2022]. Вторым цитокином, оказывающим влияние на развитие Treg-лимфоцитов, является ИЛ-2. В результате исследования секреции ИЛ-2 мононуклеарными лейкоцитами крови у всех обследованных пациентов с ТЛ установлено статистически значимое ее снижение относительно показателя в группе здоровых доноров (Таблица 1). Развитие ТЛ сопровождается нарушением клеточно-опосредованного иммунного ответа уже на начальном его этапе – в индуктивную фазу. Следствием этого является дефицит секреции Th1-ассоциированных цитокинов,

главным образом ИЛ-2. Необходимо отметить, что на фоне гипосекреции ИЛ-2 *in vitro* содержание Трег-лимфоцитов в крови у больных ТЛ не отличалось от такового в группе контроля, за исключением пациентов с диссеминированным лекарственно-резистентным ТЛ. У них в условиях дефицита ИЛ-2 и повышенной секреции TGF β регистрировалось увеличение количества Трег-клеток в крови (Таблица 1).

Известно, что ИЛ-2 имеет решающее значение в развитии Трег-клеток в тимусе, то есть естественных Трег-лимфоцитов. При этом на дифференцировку индуцированных на периферии (в периферических лимфоидных органах) адаптивных Трег-лимфоцитов ведущее влияние оказывает TGF β [Qin Y. et al., 2022]. В избытке TGF β способен самостоятельно поддерживать дифференцировку Трег-лимфоцитов без дополнительного потенцирующего эффекта со стороны ИЛ-2 [Guo K., Zhang X., 2021]. Вероятно, при ТЛ высокая TGF β -секреторная активность мононуклеарных лейкоцитов у пациентов с диссеминированным ТЛ, выделяющих лекарственно-устойчивые штаммы *M. tuberculosis*, способствовала поляризации иммунного ответа в направлении Трег-лимфоцитов и сопровождалась повышением их количества в крови у данной группы больных (что подтверждается положительной взаимосвязью между этими показателями, $r=0,76$; $p<0,05$).

На пострецепторном уровне ведущая роль в дифференцировке клеток отводится факторам транскрипции. При этом баланс Th17- и Трег-лимфоцитов в организме устанавливается за счет антагонистического взаимодействия ключевых транскрипционных регуляторов их дифференцировки – факторов транскрипции RORC2 и FoxP3 [Boardman D.A. et al., 2020; Le Menn G. et al., 2022]. Исследование экспрессии генов факторов транскрипции Th17- и Трег-лимфоцитов позволило установить повышение уровня мРНК RORC2 в лимфоцитах у пациентов с инфильтративным ТЛ (вне зависимости от чувствительности *M. tuberculosis* к противотуберкулезным средствам) (Рисунок 2), то есть в тех же группах больных, в которых регистрировалось увеличение числа Th17-лимфоцитов.

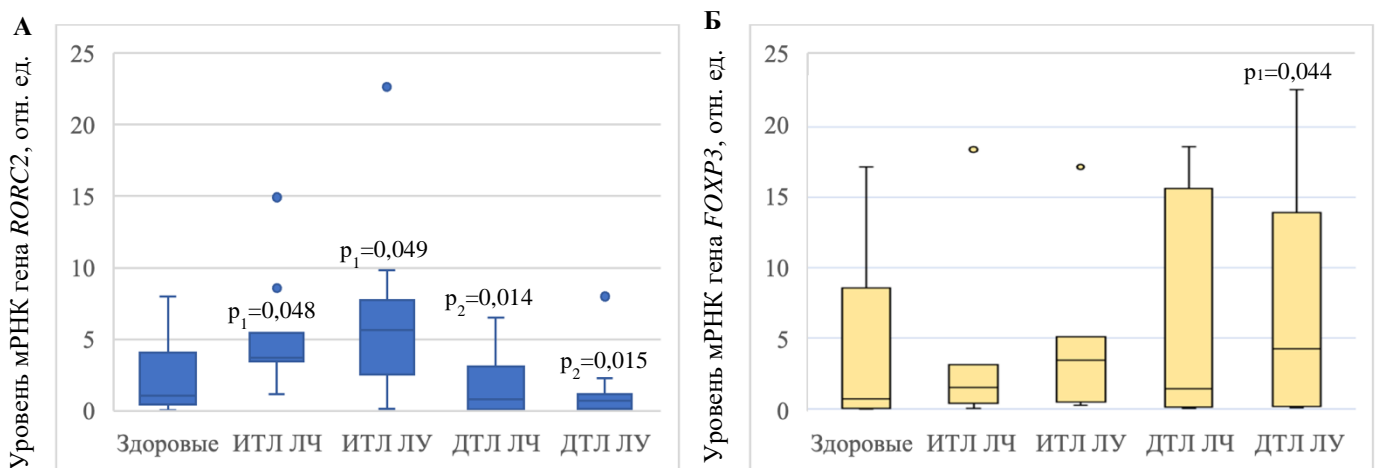


Рисунок 2 – Экспрессия генов факторов транскрипции RORC2 и FoxP3 в лимфоцитах у больных ТЛ: А – уровень мРНК гена RORC2; Б – уровень мРНК гена FoxP3

В свою очередь, анализ экспрессии гена транскрипционного фактора FoxP3 показал статистически значимое увеличение уровня мРНК FoxP3 в лимфоцитах у пациентов с лекарственно-резистентным диссеминированным ТЛ в случае (Рисунок 2). Указанные

изменения сочетались с повышением количества Трег-лимфоцитов у этой группы больных.

На рисунке 3 представлено реципрокное влияние цитокинов, определяющих дифференцировку Th17-лимфоцитов и Трег-клеток, и их факторов транскрипции.

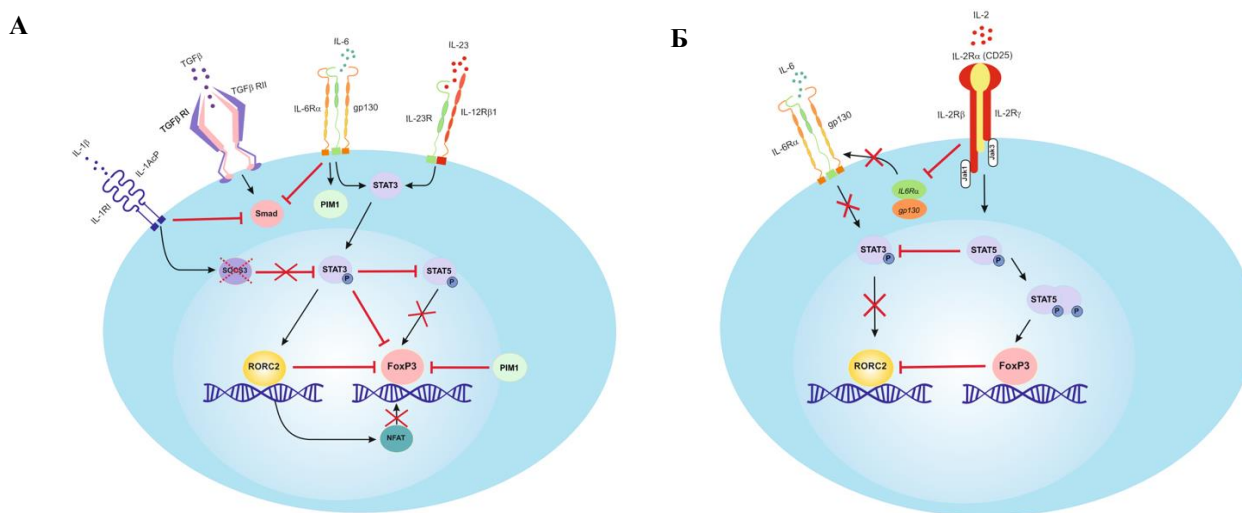


Рисунок 3 – Реципрокное влияние цитокинов и факторов транскрипции на экспрессию регуляторов дифференцировки Th17- и Трег-лимфоцитов: А – цитокин- и STAT3/RORC2-опосредованное ингибирование экспрессии фактора транскрипции FoxP3; Б – цитокин- и STAT5/FoxP3-опосредованное ингибирование экспрессии фактора транскрипции RORC2 (оригинальная схема, составленная с использованием данных литературы)

Примечание. Здесь и далее в рисунках: FoxP3 – белок скурфин, фактор транскрипции; IL – интерлейкин; IL-1RI – рецептор для IL-1β; IL-1RAcP – вспомогательный белок для связывания IL-1β; IL-2Rα – высокоаффинная α-цепь рецептора для IL-2 (CD25); IL-2Rβ – β-цепь рецептора для IL-2; IL-2Rγ – γ-цепь рецептора для IL-2; IL-6Rα – α-цепь рецептора для IL-6; grp130 – β-цепь рецептора для IL-6; IL-23Rα – специфичная субъединица рецептора IL-23; IL-12Rβ1 – субъединица рецептора IL-12 (необходима для связывания IL-23); Jak – тирозинкиназа семейства Janus (Янус-киназа); NFAT – ядерный фактор активации Т-клеток, фактор транскрипции; PIM – протеинкиназа; ROR – рецепторы-сироты, родственные ретиноидным, фактор транскрипции; Smad – фактор транскрипции канонического TGF-зависимого пути; SOCS – белок-супрессор передачи цитокиновых сигналов; STAT – трансдуктор сигнала и активатор транскрипции, STATp – фосфорилированная форма STAT; TGF – трансформирующий фактор роста, TGF-R – рецептор для TGF.

Обобщая полученные результаты, можно заключить, что течение инфильтративного ТЛ сопровождается поляризацией иммунного ответа в направлении Th17-лимфоцитов, о чем свидетельствует повышение экспрессии фактора транскрипции RORC2 по взаимосвязи с увеличением количества Th17-лимфоцитов и гиперсекрецией IL-6. При этом развитие диссеминированного лекарственно-устойчивого ТЛ характеризуется дифференцировкой Т-лимфоцитов преимущественно в направлении Трег-клеток, о чем свидетельствует увеличение экспрессии фактора транскрипции FoxP3 в сочетании с повышением числа Трег-клеток в крови и гиперсекрецией TGFβ. Подтверждением вышеизложенному служит выявленная положительная взаимосвязь между уровнем мРНК RORC2 в лимфоцитах,

содержанием (относительным и абсолютным) Th17-лимфоцитов в крови ($r=0,77$; $p<0,05$ и $r=0,81$; $p<0,05$ соответственно) и секрецией IL-6 *in vitro* ($r=0,62$; $p<0,05$); а также между уровнем мРНК FoxP3 в лимфоцитах, количеством (относительным и абсолютным) Treg-лимфоцитов в крови ($r=0,88$; $p<0,05$ и $r=0,71$; $p<0,05$ соответственно) и секрецией TGF β *in vitro* ($r=0,86$; $p<0,05$). В то же время установлена отрицательная взаимосвязь между показателями базальной секреции IL-6 *in vitro*, секрецией IL-23 дендритными клетками и уровнем мРНК гена фактора транскрипции FoxP3 в лимфоцитах ($r=-0,84$; $p<0,05$ и $r=-0,88$; $p<0,05$ соответственно).

Таким образом, характеризуя молекулярно-генетические механизмы, лежащие в основе дифференцировки Th-лимфоцитов, можно заключить, что связывание цитокинов с соответствующими рецепторами на поверхности клетки инициирует сложные внутриклеточные молекулярные взаимодействия, сопровождающиеся активацией сигнальных каскадов, приводящих к изменению транскрипции генов и образованию специфических эффекторных белковых молекул клетки. Потенцируя и взаимно усиливая эффекты друг друга, цитокины, в конечном итоге, способствуют дифференцировке, развитию и функционированию Th17- или Treg-лимфоцитов. На начальном этапе дифференцировки Th17-лимфоцитов низкие концентрации TGF β в сочетании с гиперсекрецией IL-6 стимулируют экспрессию фактора транскрипции RORC2 и рецепторов для IL-1 β и IL-23. Далее на развитие Th17-лимфоцитов оказывает влияние IL-1 β и на заключительном этапе дифференцировки – IL-23. Усиливая эффекты TGF β и IL-6, данные цитокины стабилизируют фенотип, поддерживают жизнеспособность и (в случае IL-23) созревание клеток [Guo K., Zhang X., 2021; Ritter K. et al., 2021; Robert M. et al., 2022; Du L. et al., 2023]. При этом решающее значение в развитии Treg-лимфоцитов имеет TGF β . Высокие дозы цитокина инициируют Smad-зависимую экспрессию транскрипционного фактора FoxP3 и в условиях низкой концентрации IL-6 способствуют дифференцировке Treg-клеток [Liu H., et al., 2020; Le Menn G. et al., 2022].

Известно, что реакция клетки на действие антигенного стимула является важным показателем эффективности и результативности иммунного ответа. Поскольку вакцинный штамм BCG является специфическим стимулом (за счет общих антигенных детерминант с инфицирующим штаммом *M. tuberculosis*) в отношении антигенреактивных клеток, формирующихся в организме при ТЛ, целесообразно использовать данную вакцину для индукции иммунокомпетентных клеток крови и оценки резерва их цитокинсекреторной способности.

Проведенное исследование показало, что внесение в культуры клеток больных ТЛ вакцинного штамма BCG не сопровождалось изменением секреции цитокинов, влияющих на развитие Th17- и Treg-лимфоцитов, и соответствовало значениям ее базального уровня. При этом у пациентов с диссеминированным лекарственно-устойчивым ТЛ добавление вакцины в супернатанты культуральных суспензий мононуклеарных лейкоцитов приводило к снижению BCG-индуцированной секреции TGF β относительно базального значения (Таблица 1). Отсутствие увеличения секреции исследуемых цитокинов (IL-1 β , IL-2, IL-6, TGF β) *in vitro* в ответ на дополнительное антигенное воздействие у пациентов с ТЛ свидетельствует об истощении функционального резерва иммунокомпетентных клеток крови и снижении их антиген-индуцированной реактивности. Вероятно, непосредственное влияние избытка антигена на иммунокомпетентные клетки *in vivo* при ТЛ вызывает

снижение их функциональных ресурсов и, как результат, повторное воздействие антигенного стимула, несмотря на достаточную силу активационных сигналов, не сопровождается ответной гиперсекрецией цитокинов *in vitro*, а в случае диссеминированного ТЛ с лекарственной устойчивостью возбудителя приводит к снижению TGF β -секреторной активности клеток.

Накопленные на данный момент знания о роли Th17-лимфоцитов в иммунном ответе при ТЛ свидетельствуют о том, что участие данных клеток в реализации и регуляции антимикобактериального иммунитета обусловлено способностью секретировать широкий кластер цитокинов – IL-17A, IL-22, IL-26, фактор некроза опухоли (Tumor Necrosis Factor, TNF) α , GM-CSF и хемокинов – CXCL9, CXCL10 и CXCL11 [Moutsopoulos N.M., 2020; Feng J.-Y. et al., 2021; Parigi T.L. et al., 2022; Xie Y. et al., 2022]. При этом IL-17A является основным эффекторным цитокином этих клеток [Shanmugasundaram U. et al., 2020; Ritter K. et al., 2021; Wang Y. et al., 2023].

В результате оценки *in vitro* секреции Th17-ассоциированных цитокинов у всех пациентов с ТЛ установлено повышение базального уровня IL-17A по сравнению со значением у здоровых добровольцев. Примечательно, что наиболее выраженное увеличение базальной секреции исследуемого цитокина *in vitro* регистрировалось в группе пациентов с диссеминированным ТЛ, выделяющих штаммы *M. tuberculosis*, резистентные к противотуберкулезным средствам терапии (Таблица 2).

Как указывалось ранее, течение инфильтративного лекарственно-чувствительного и лекарственно-устойчивого ТЛ сопровождается вовлечением в механизмы иммунной защиты Th17-лимфоцитов. В этой связи закономерно, что на фоне повышения количества Th17-клеток в крови у этих больных регистрируется увеличение *in vitro* секреции их основного цитокина – IL-17A, что подтверждается положительной взаимосвязью между относительным числом Th17-лимфоцитов и концентрацией IL-17A в супернатантах интактной культуры мононуклеарных лейкоцитов ($r=0,73$, $p<0,05$). Вместе с тем развитие диссеминированного ТЛ не характеризовалось приростом Th17-лимфоцитов в крови, однако концентрация IL-17A при *in vitro* культивировании клеток у этих больных оказалась повышенной. Очевидно, что в основе иммунопатогенеза различных клинических форм ТЛ лежат неоднозначные механизмы иммунного ответа на *M. tuberculosis*. В случае инфильтративной клинической формы поляризация иммунного ответа идет в направлении Th1- и Th17-лимфоцитов, тогда как для диссеминированного ТЛ на фоне неэффективности Th1-опосредованного иммунитета происходит инициация Th2-зависимого иммунного ответа. Кроме того, обязательным фактором развития диссеминированного ТЛ является гематогенное и/или лимфогенное распространение инфекции, приводящее к обширному поражению легочной ткани и, вследствие этого, развитию остро прогрессирующего воспалительного процесса с вовлечением большого числа иммунокомпетентных клеток. Вероятно, бактериемия, имеющаяся у пациентов с диссеминированным ТЛ, способствовала развитию более сильного ответа со стороны IL-17A-секретирующих клеток. При этом необходимо отметить, что помимо Th17-лимфоцитов IL-17A-секреторной активностью обладают и другие клетки, играющие важное значение в реакциях врожденного и адаптивного иммунитета, прежде всего – $\gamma\delta$ Т-лимфоциты, натуральные киллеры (Natural Killer, NK), инвариантные натуральные киллерные Т-лимфоциты (invariant Natural Killer T-lymphocyte, iNKT), врожденные лимфоидные клетки (Innate Lymphoid Cells, ILC) типа 3 и

Таблица 2 – Секретция *in vitro* IL-17A, IL- 22 и IFN γ у больных ТЛ

Концентрация цитокинов, пг/мл	Здоровые доноры	Инfiltrативный ТЛ		Диссеминированный ТЛ	
		ЛЧ	ЛУ	ЛЧ	ЛУ
IL-17A	Базальная	21,11 (17,74–24,85)	29,92 (23,64–32,33) $p_1=0,043$	61,32 (42,39–98,64) $p_1<0,001$	201,03 (51,07–315,54) $p_1<0,001; p_2=0,001$
	BCG-индуцированная	28,12 (26,14–32,19) $p_4=0,015$	31,98 (24,86–37,93)	59,09 (39,54–73,83) $p_1=0,007$	281,54 (81,02–334,56) $p_1<0,001; p_2=0,001$ $p_3=0,004$
IL-22	Базальная	21,04 (10,71–30,29)	55,36 (33,87–71,00) $p_1=0,021$	43,33 (32,39–51,75) $p_1=0,021$	41,53 (30,21–61,74) $p_1=0,008$
	BCG-индуцированная	62,16 (50,75–82,89) $p_4=0,003$	54,67 (31,04–73,03)	35,79 (17,42–53,25) $p_1=0,012$	59,87 (51,02–142,2)
IFN γ	Базальная	30,20 (26,75–37,18)	120,86 (98,17–147,30) $p_1<0,001$	129,69 (98,22–148,53) $p_1<0,001$	145,60 (111,13–163,20) $p_1<0,001$
	BCG-индуцированная	60,86 (51,14–68,37) $p_4<0,001$	156,91 (142,40–203,30) $p_1<0,001; p_4=0,035$	134,82 (96,11–164,59) $p_1=0,004; p_2=0,015$	147,18 (111,43–195,12) $p_1<0,001$

CD8⁺ Т-лимфоциты [Brevi A. et al., 2020; Pan L. et al., 2021; Berry G. et al., 2022; Țiburcă L. et al., 2022; Xie Y. et al., 2022]. Не исключено, что повышение функциональной активности данных клеток могло способствовать увеличению концентрации ИЛ-17А в крови пациентов, страдающих диссеминированной формой заболевания.

Известно, что на проявление функциональной активности клеток оказывают влияние многие факторы, в том числе микробиологические и генетические особенности штаммов *M. tuberculosis* – вирулентность и антибиотикорезистентность, массивность их инвазии. Зарубежными коллегами продемонстрировано значительное повышение способности клеток секретировать ИЛ-17А при инфицировании лабораторных животных вирулентными штаммами *M. tuberculosis*, тогда как заражение слабо- и авирулентными штаммами не сопровождалось выраженной ИЛ-17А-секреторной активностью клеток. Также было отмечено наличие взаимосвязи между вирулентностью микроорганизмов и их способностью формировать устойчивость к лекарственным средствам. Так, наибольшей вирулентностью обладают штаммы бактерий, проявляющие множественную лекарственную устойчивость [Маничева О.А. и соавт., 2011; Гординская Н.А. и соавт., 2021; Geisinger E., Isberg R.R., 2017]. Вероятно, инфицирование пациентов штаммами *M. tuberculosis*, резистентными к противотуберкулезным средствам, и последующее развитие диссеминированной клинической формы заболевания, характеризующейся распространенным характером поражения легочной ткани, обуславливало значительное повышение *in vitro* секреции ИЛ-17А у этой группы больных.

Таким образом, можно предположить, что выявленная гиперсекреция ИЛ-17А *in vitro* при туберкулезе легких, особенно при самой тяжелой форме заболевания, рассматриваемой в настоящем исследовании – диссеминированном лекарственно-устойчивом ТЛ – носит компенсаторный характер со стороны иммунокомпетентных клеток. Иницируя защитные механизмы на ранних этапах развития воспалительного процесса, рекрутируя клетки врожденного и адаптивного иммунного ответа в места скопления *M. tuberculosis*, ИЛ-17А способствует образованию гранулемы и играет критическую роль в предотвращении распространения инфекции (Рисунок 4).

Еще одним функционально важным цитокином Th17-лимфоцитов является ИЛ-22. В настоящем исследовании у пациентов с ТЛ (вне зависимости от клинической формы заболевания и устойчивости *M. tuberculosis* к средствам противотуберкулезной терапии) зарегистрировано повышение ИЛ-22-секреторной активности клеток (Таблица 2). Увеличение *in vitro* секреции ИЛ-22 происходило во взаимосвязи с повышением количества Th17-лимфоцитов (что подтверждается положительной взаимосвязью между относительным и абсолютным числом Th17-лимфоцитов и базальным уровнем секреции ИЛ-22, $r=0,84$, $p<0,05$; $r=0,57$, $p<0,05$ соответственно). Контролируя рост *M. tuberculosis* и уменьшая тем самым микробную нагрузку организма, защищая ткани бронхоальвеолярного тракта от повреждений, ИЛ-22 вовлекается в механизмы противотуберкулезной защиты организма и способствует усилению антимикобактериального иммунитета (Рисунок 5).

Необходимо отметить, что индукция клеток вакцинным штаммом BCG у пациентов с ТЛ не сопровождалась ответным увеличением секреции Th17-ассоциированных цитокинов – ИЛ-17А и ИЛ-22 *in vitro*, что указывает, как сообщалось ранее, на снижение резерва цитокин-секреторной активности иммунокомпетентных клеток крови в условиях туберкулезной инфекции (Таблица 2).

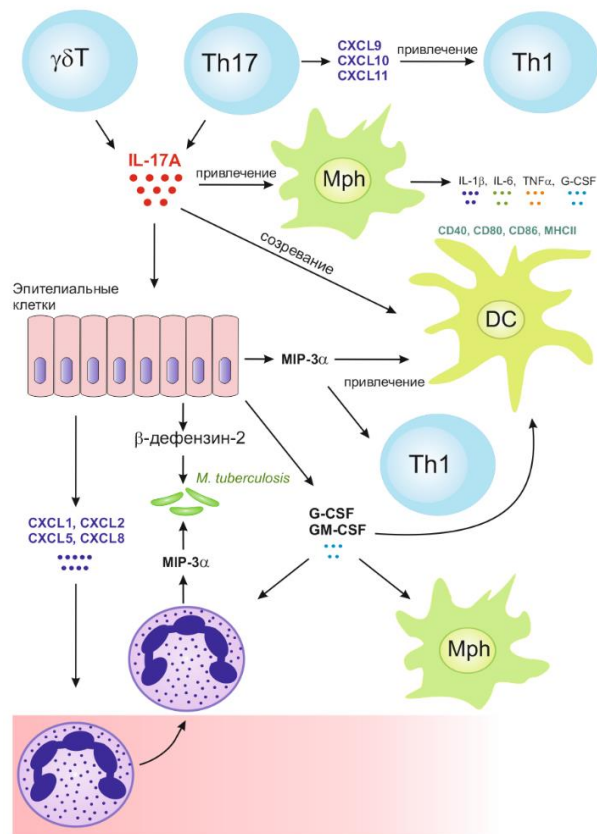


Рисунок 4 – Биологические эффекты IL-17A в реализации антимикробного иммунитета (оригинальная схема, составленная с использованием данных литературы)
Примечание. Здесь и далее в рисунках: CXCL – хемокин семейства CXC; DC (Dendritic cell) – дендритная клетка; G-CSF – гранулоцитарный колониестимулирующий фактор; GM-CSF – гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор; МНС – молекула главного комплекса гистосовместимости; MIP – макрофагальный белок воспаления; Mph (Macrophage) – макрофаг; *M. tuberculosis* – микобактерия туберкулеза; Th – Т-лимфоцит-хелпер; TNF – фактор некроза опухоли; $\gamma\delta$ T – $\gamma\delta$ T-лимфоцит.

Таким образом, характеризуя роль Th17-лимфоцитов в развитии иммунного ответа при инфицировании *M. tuberculosis*, необходимо учитывать стадию инфекционно-воспалительного процесса. Острый воспалительный процесс, индуцируемый *M. tuberculosis*, как правило, является самоограничивающимся и при комплементарном функционировании систем врожденного и адаптивного иммунитета с вовлечением Th17-лимфоцитов (на ранних стадиях), опосредующих активацию барьерных функций бронхоальвеолярного тракта, привлечение в очаг воспаления нейтрофилов, макрофагов, дендритных клеток и Th1-лимфоцитов, сопровождается эффективным устранением инфекционного агента и восстановлением тканей. Однако нарушение регуляции иммунного ответа, цитокиновый дисбаланс, стойкая и длительная активация нейтрофилов (в том числе Th17-опосредованная), сопровождаются выраженной деструкцией тканей, выходом *M. tuberculosis* во внеклеточное пространство, диссеминацией и прогрессированием воспалительного процесса с переходом в хроническую форму, а в ряде случаев развитием синдрома системного воспалительного ответа.

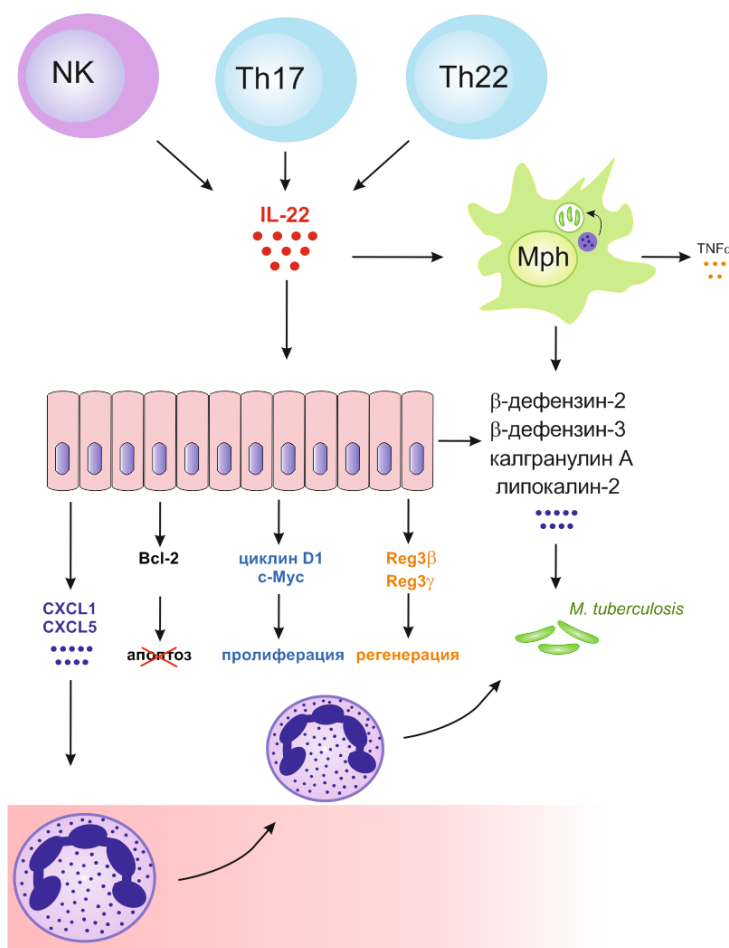


Рисунок 5 – Биологические эффекты IL-22 в реализации антимикобактериального иммунитета (оригинальная схема, составленная с использованием данных литературы)

Примечание. Bcl-2 – белки, регулирующие апоптоз; c-Myc – фактор транскрипции, регулирующий пролиферацию; NK (Natural Killer) – натуральный киллер; Reg3 – белки, принадлежащие к регенерирующим лектинам С-типа.

В настоящее время известно, что для каждой субпопуляции $CD4^+$ Т-лимфоцитов требуются определенные условия их индукции и характерен отличительный цитокиновый профиль. Вместе с тем исследованиями последних лет выявлено наличие выраженной гетерогенности и фенотипической пластичности популяций Th-лимфоцитов. Установлено, что при различных условиях клетки, проходящие этапы дифференцировки, могут принимать гибридные фенотипы, коэкспрессируя транскрипционные факторы и цитокины разных клонов Th-лимфоцитов. Более того, в отличие от лабораторных животных, иммунная система человека подвергается постоянному и разнообразному воздействию антигенов, что отражается в большей степени гетерогенности и пластичности Th-лимфоцитов у людей. Относительно недавно показано, что «наивные» $CD4^+$ Th-лимфоциты способны дифференцироваться в смешанный фенотип клеток – Th17/Th1-лимфоциты (или Th17.1-лимфоциты), коэкспрессируя специфические для Th17- и Th1-лимфоцитов транскрипционные факторы – RORC2 и T-bet соответственно и цитокины обоих типов – IL-17A и IFN γ [Shanmugasundaram U. et al., 2020; Belpaire A. et al., 2022].

При исследовании малой (гетерогенной) субпопуляции Th17/Th1-лимфоцитов установлено повышение ее численности (как относительных, так и абсолютных значений) в

крови у пациентов, имеющих инфильтративную клиническую форму заболевания независимо от спектра лекарственной чувствительности возбудителя (оно составило 2,50 (1,50–6,50) %, $p_1=0,034$; $0,069 (0,044–0,101) \times 10^9/\text{л}$, $p_1=0,028$ при лекарственно-чувствительном и 2,65 (1,60–2,90) %, $p_1=0,048$; $0,058 (0,029–0,084) \times 10^9/\text{л}$, $p_1=0,040$ при лекарственно-устойчивом варианте заболевания при значениях у здоровых добровольцев 1,25 (0,85–1,45) %, $0,022 (0,015–0,027) \times 10^9/\text{л}$) (Рисунок 6).

Th17/Th1-лимфоциты в отношении секреции цитокинов обладают уникальными особенностями – они могут одновременно проявлять функциональную активность Th17- и Th1-клеток. Учитывая выраженные биологические эффекты $\text{IFN}\gamma$ в отношении индукции эффекторных функций макрофагов, натуральных киллеров, антигенспецифических CD4^+ и CD8^+ Т-лимфоцитов и поддержания, тем самым, реакций клеточного иммунного ответа, становится очевидным важное значение этих клеток в реализации противотуберкулезной резистентности организма [Баласаянц Г.С., Рузанов Д.Ю., 2022; Шовкун Л.А., Кудлай Д.А., 2023; Chen Y. et al., 2023; Kiflie A. et al., 2023; Wei J. et al., 2023]. Не исключено, что отсутствие повышения количества Th17/Th1-лимфоцитов в крови у пациентов с диссеминированным ТЛ обусловлено их сосредоточением и накоплением в местах персистенции *M. tuberculosis* – слизистой оболочке дыхательных путей для осуществления борьбы с инфекцией.

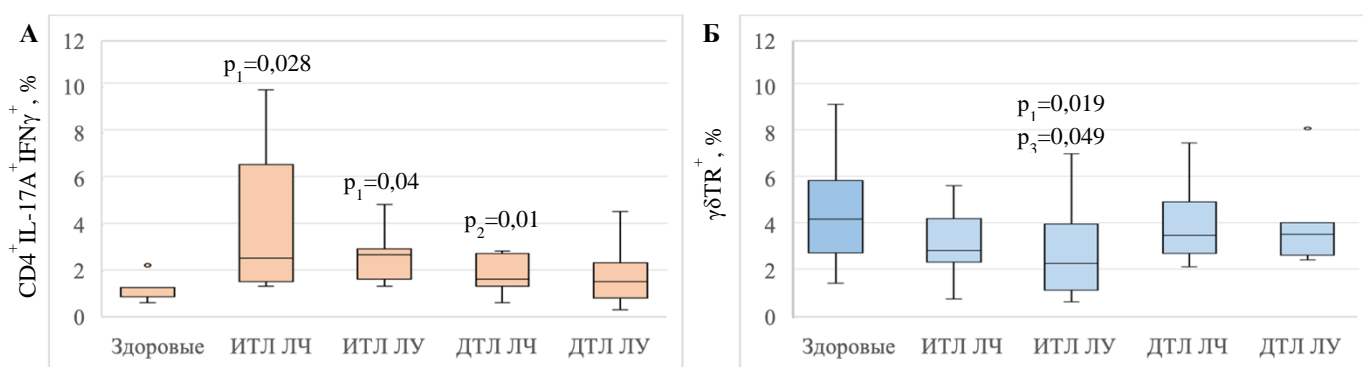


Рисунок 6 – Содержание малых субпопуляций Т-лимфоцитов в крови у больных ТЛ: А – количество Th17/Th1-лимфоцитов ($\text{CD4}^+\text{IL-17A}^+\text{IFN}\gamma^+$ клеток); Б – количество $\gamma\delta\text{TR}^+$ лимфоцитов ($\gamma\delta\text{TR}^+$ клеток)

Примечание. p_3 – уровень статистической значимости различий по сравнению с показателями у больных ЛЧ ТЛ.

Примечательно, что исследование $\text{IFN}\gamma$ -секреторной активности клеток *in vitro* позволило установить выраженное ее увеличение (как базальной, так и индуцированной антигеном) во всех группах обследованных лиц. При этом стимуляция клеток вакцинным штаммом BCG сопровождалась увеличением секреции (относительно базального уровня) исследуемого цитокина не только у здоровых доноров, но и у пациентов, имеющих инфильтративную форму заболевания (Таблица 2). Значительное увеличение базальной и индуцированной антигеном секреции ключевого провоспалительного цитокина – $\text{IFN}\gamma$ *in vitro* свидетельствует о повышенной реактивности иммунокомпетентных клеток и, по-видимому, является универсальной защитной реакцией на инфицирование *M. tuberculosis*. В свою очередь, у пациентов с инфильтративным лекарственно-чувствительным и

лекарственным-устойчивым ТЛ увеличение секреции $IFN\gamma$ *in vitro* могло быть обусловлено повышением количества Th17/Th1-лимфоцитов в крови и их функциональной активности, что подтверждается положительной взаимосвязью между относительным и абсолютным содержанием $CD4^+IL-17A^+IFN\gamma^+$ клеток и базальным уровнем секреции цитокина ($r=0,84$, $p<0,05$; $r=0,94$, $p<0,05$ соответственно).

Вместе с тем, на фоне гиперсекреции $IFN\gamma$ у пациентов с туберкулезом легких, как указывалось ранее, имеются нарушения в реализации механизмов врожденного и адаптивного иммунитета. Предполагается, что несостоятельность антимикобактериального иммунного ответа обусловлена тем, что под действием *M. tuberculosis* в инфицированных макрофагах снижается экспрессия мРНК рецептора к $IFN\gamma$, что приводит к дефициту $IFN\gamma R$ на поверхности клеток и, несмотря на достаточную секрецию данного цитокина иммунокомпетентными клетками, его эффекты в отношении макрофагов (усиление их миграции и экспрессии молекул МНС II типа; индукция слияния фагосом и лизосом; повышение завершенности фагоцитоза и микробицидной активности) оказываются слабо реализованными [Баласанянц Г.С., Рузанов Д.Ю., 2022; Kak G. et al., 2020].

Осуществление иммунологической защиты при попадании в организм *M. tuberculosis* непосредственно связано с вовлечением факторов «первой линии защиты», где главенствующая роль, помимо макрофагов и дендритных клеток, отводится малой субпопуляции – $\gamma\delta T$ -лимфоцитам [Wei J. et al., 2023]. $\gamma\delta T$ -клетки, широко представленные в слизистых оболочках бронхоальвеолярного тракта, одними из первых активируются при инфицировании *M. tuberculosis* и инициируют антимикобактериальный иммунитет. При этом в периферической крови количество данных клеток не превышает 5%. В настоящем исследовании установлено снижение содержания $\gamma\delta T$ -лимфоцитов в крови у пациентов с инфильтративным лекарственно-чувствительным (в случае абсолютного количества – $0,047$ ($0,028-0,098$) $\times 10^9$ /л, $r_1=0,044$ при относительном содержании $3,14$ ($2,30-4,18$) %) и лекарственно-устойчивым ($2,25$ ($1,10-3,94$) $r_1=0,019$, $r_3=0,049$; $0,040$ ($0,022-0,083$) $\times 10^9$ /л, $r_1=0,044$, $r_3=0,049$) ТЛ, как относительно показателей у здоровых добровольцев ($4,15$ ($2,70-5,82$) %, $0,068$ ($0,056-0,110$) $\times 10^9$ /л), так и показателей у пациентов, выделяющих штаммы *M. tuberculosis*, чувствительные к средствам этиотропной терапии. Примечательно, что у пациентов с диссеминированной клинической формой заболевания (вне зависимости от лекарственной чувствительности *M. tuberculosis*) содержание $\gamma\delta T$ -клеток в крови соответствовало показателям у здоровых добровольцев (Рисунок 6).

Не исключено, что значительное повышение концентрации $IL-17A$ и $IFN\gamma$ *in vitro* у пациентов с диссеминированным ТЛ обусловлено функциональной активностью $\gamma\delta T$ -лимфоцитов, о чем свидетельствуют выявленные положительные корреляционные взаимосвязи между относительным и абсолютным содержанием $\gamma\delta TCR^+$ клеток в крови и базальным уровнем *in vitro* секреции $IL-17A$ ($r=0,70$, $p<0,05$; $r=0,55$, $p<0,05$ соответственно) и $IFN\gamma$ ($r=0,84$, $p<0,05$; $r=0,61$, $p<0,05$ соответственно).

Можно предположить, что снижение количества $\gamma\delta T$ -клеток в крови у пациентов с инфильтративным ТЛ является результатом их преимущественного скопления в лимфоидной ткани слизистых оболочек бронхоальвеолярного тракта для реализации своей защитной функции. В свою очередь, нормальное содержание $\gamma\delta T$ -лимфоцитов в крови у пациентов с диссеминированным ТЛ можно рассматривать как компенсаторную протективную реакцию со стороны иммунной системы, направленную на элиминацию

M. tuberculosis, находящихся в крови, поскольку данная клиническая форма заболевания характеризуется гематогенным путем распространения инфекции и наличием бактериемии.

Известно, что устойчивость организма к туберкулезной инфекции требует тонкого баланса в иммунной системе между ее провоспалительными эффектами, контролирующими репликацию и размножение возбудителя, и противовоспалительной регуляцией, предотвращающей избыточную активацию иммунокомпетентных клеток [Safar H.A. et al., 2020; Van Dis E. et al., 2022]. При этом центральным звеном, контролирующим продолжительность и силу иммунного ответа, а также способствующим формированию иммуносупрессии у пациентов с ТЛ, является субпопуляция специализированных регуляторных клеток – Treg-лимфоцитов [Ahmed A., Vyakarnam A., 2020; Yu X. et al., 2022; Lozano-Ordaz V. et al., 2023].

Как сообщалось ранее, в настоящем исследовании из всех обследованных групп только у пациентов с диссеминированным лекарственно-устойчивым ТЛ установлено повышение числа (относительного и абсолютного) Treg-клеток (Рисунок 1). Учитывая значительный иммуносупрессорный потенциал Treg-клеток, повышенное их содержание в крови у пациентов с диссеминированным ТЛ, характеризующимся выраженными деструктивными процессами в легочной ткани и распространенным характером ее поражения в сочетании с лекарственной резистентностью *M. tuberculosis*, может способствовать более тяжелому и длительному клиническому течению заболевания.

На данном момент открытым остается вопрос – что является первичным – массивность и вирулентность инфицирующих штаммов *M. tuberculosis*, опосредующих выраженные нарушения со стороны иммунной системы, или же имеющаяся у пациентов иммунная дисфункция, способствующая активному и агрессивному размножению возбудителя заболевания в организме [Баласанянц Г.С., Рузанов Д.Ю., 2022].

В последние десятилетия проблема антибиотикорезистентности занимает одну из ключевых позиций в системе общественного здравоохранения во всем мире и требует особого внимания со стороны медицинского сообщества [Гординская Н.А. и соавт., 2021]. Биологическим свойствам *M. tuberculosis*, особенно ее лекарственной устойчивости, отводится важное значение в основе формирования Т-клеточного дефицита, регистрируемого у больных туберкулезом. Известно, что резистентные к средствам этиотропной терапии штаммы *M. tuberculosis* в большей степени подавляют функции Т-лимфоцитов и антигенпрезентирующих клеток за счет прямого или опосредованного (через стимуляцию продукции иммуносупрессорных цитокинов) воздействия, усугубляя тем самым иммунологическую недостаточность [Rani A. et al., 2022; Lozano-Ordaz V. et al., 2023].

В этой связи, установленное в настоящем исследовании повышение содержания Th17-лимфоцитов (особенно в случае лекарственной резистентности возбудителя) в крови у пациентов с инфильтративным ТЛ, на наш взгляд, может способствовать более благоприятному течению инфекционного процесса. Компенсируя функциональную неполноценность Th1-лимфоцитов, привлекая в очаг воспалительного процесса клетки врожденного иммунитета (макрофаги и нейтрофилы), активируя эпителиальные клетки, Th17-лимфоциты способствуют формированию защитных иммунных реакций на уровне бронхоальвеолярного тракта при инфицировании *M. tuberculosis*. Подобная компенсаторная реакция со стороны Th17-лимфоцитов особенно важна для пациентов с лекарственно-устойчивым ТЛ, учитывая выраженный цитотоксический эффект в отношении

иммунокомпетентных клеток крови, резистентных к противотуберкулезным средствам штаммов *M. tuberculosis* (Рисунок 7).

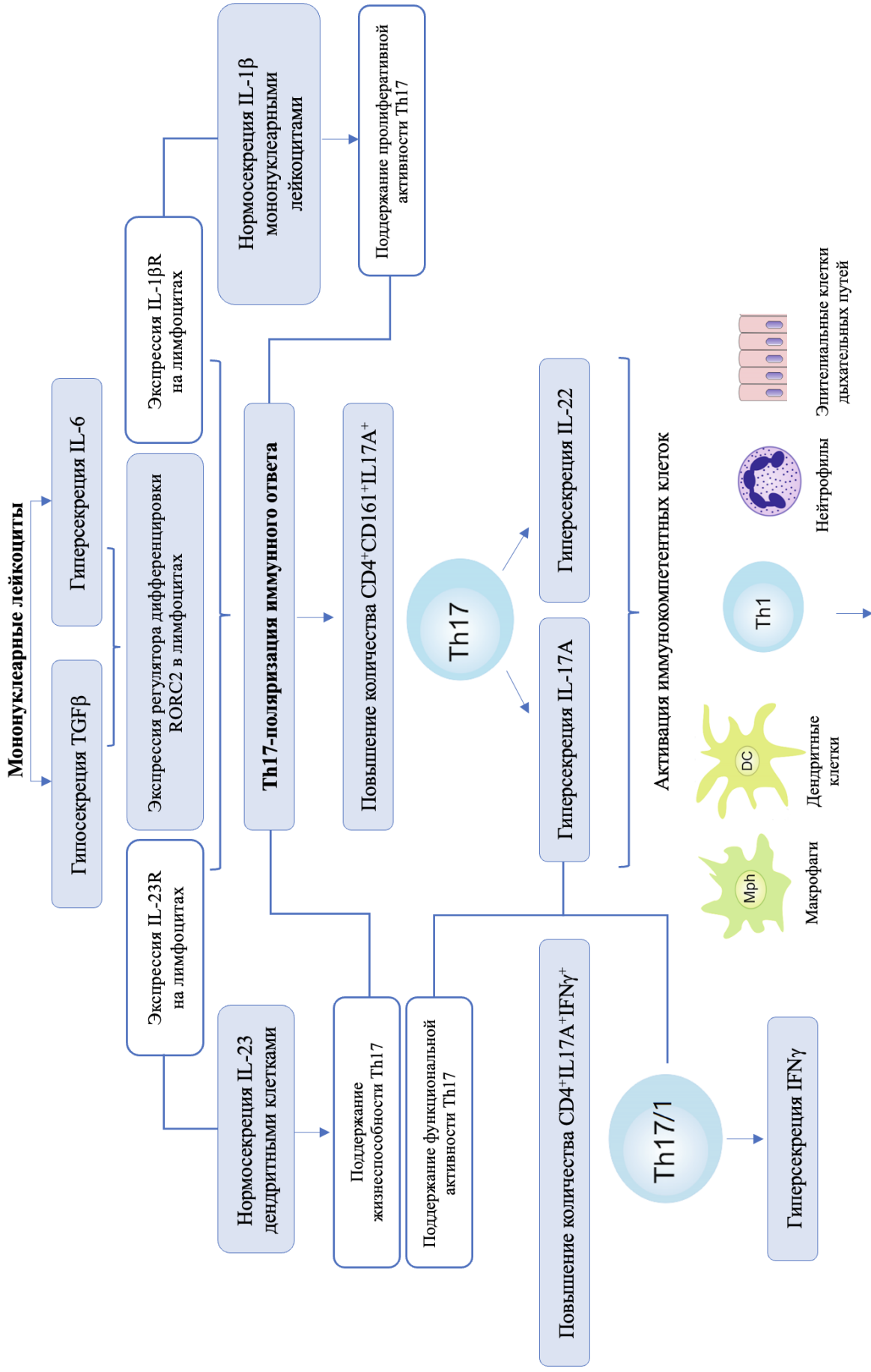
В свою очередь у пациентов с диссеминированной клинической формой ТЛ отсутствие ответа со стороны Th17-лимфоцитов на фоне активации Treg-лимфоцитов (в случае лекарственной устойчивости *M. tuberculosis*) свидетельствует о более выраженных нарушениях в механизмах иммунной защиты и может способствовать формированию иммуносупрессии, что, безусловно, ухудшает прогноз не только течения, но и излечения заболевания (Рисунок 8).

Учитывая, что Th17- и Treg-лимфоциты имеют общие пути дифференцировки и в популяции людей обладают более выраженной пластичностью, особый интерес вызывает изучение молекулярных механизмов возможного перепрограммирования данных клеточных линий. Так, обнаружены Treg-клетки, подобные Th17-лимфоцитам, которые одновременно экспрессируют факторы транскрипции FoxP3 и ROR γ t [Mickael M.E. et al., 2020; Zhang W. et al., 2021]. Учитывая выраженную иммуносупрессорную активность Treg-клеток, преобразование их в Th17-лимфоциты может способствовать восстановлению баланса иммунной системы, что особенно важно в патогенезе инфекционных заболеваний и может иметь потенциальное клиническое применение в разработке новых терапевтических подходов в лечении ТЛ.

С целью выявления совокупности показателей, участвующих в формировании единого фактора, определяющего причинно-следственные взаимосвязи, оказывающие влияние на поляризацию иммунного ответа, у пациентов с ТЛ проведен многомерный факторный анализ. Данный анализ позволил сгруппировать исследуемые количественные показатели, чья взаимная корреляция обуславливает наибольшую долю общей дисперсии, и извлечь фактор (методом главных компонент), оказывающий влияние в формировании признака (поляризацию иммунного ответа). В каждой группе исследования выявлены несколько показателей, обладающих высокими факторными нагрузками (показатели с факторной нагрузкой более 0,7), которые были объединены в два фактора, влияющих на поляризацию иммунного ответа у пациентов с ТЛ. В результате проведенного многомерного факторного анализа были подтверждены выявленные закономерности во взаимосвязи исследуемых признаков. Для каждой группы обследованных лиц определены два фактора, которые объединили показатели, оказывающие влияние на характер иммунного ответа у данных больных.

Так, у пациентов с инфильтративным лекарственно-чувствительным ТЛ первый и наиболее значимый фактор (детерминирующий 24,3% дисперсии матрицы) включал показатели, обуславливающие Th17-поляризацию иммунного ответа, а именно значения базальной секреции IL-1 β и IL-6 *in vitro*, уровень мРНК гена фактора транскрипции RORC2 в лимфоцитах и содержание Th17-клеток (абсолютное и относительное) в крови.

Второй фактор (обуславливающий 18,5% дисперсии матрицы), фактор функциональной активности, объединил относительное количество $\gamma\delta$ T-лимфоцитов и базальную секрецию IL-17A *in vitro*.



Формирование противотуберкулезной резистентности организма

Рисунок 7 – Механизмы Th17-поляризации иммунного ответа у пациентов с инфильтративным туберкулезом легких по данным литературы и результатам собственных исследований (выделено цветом)

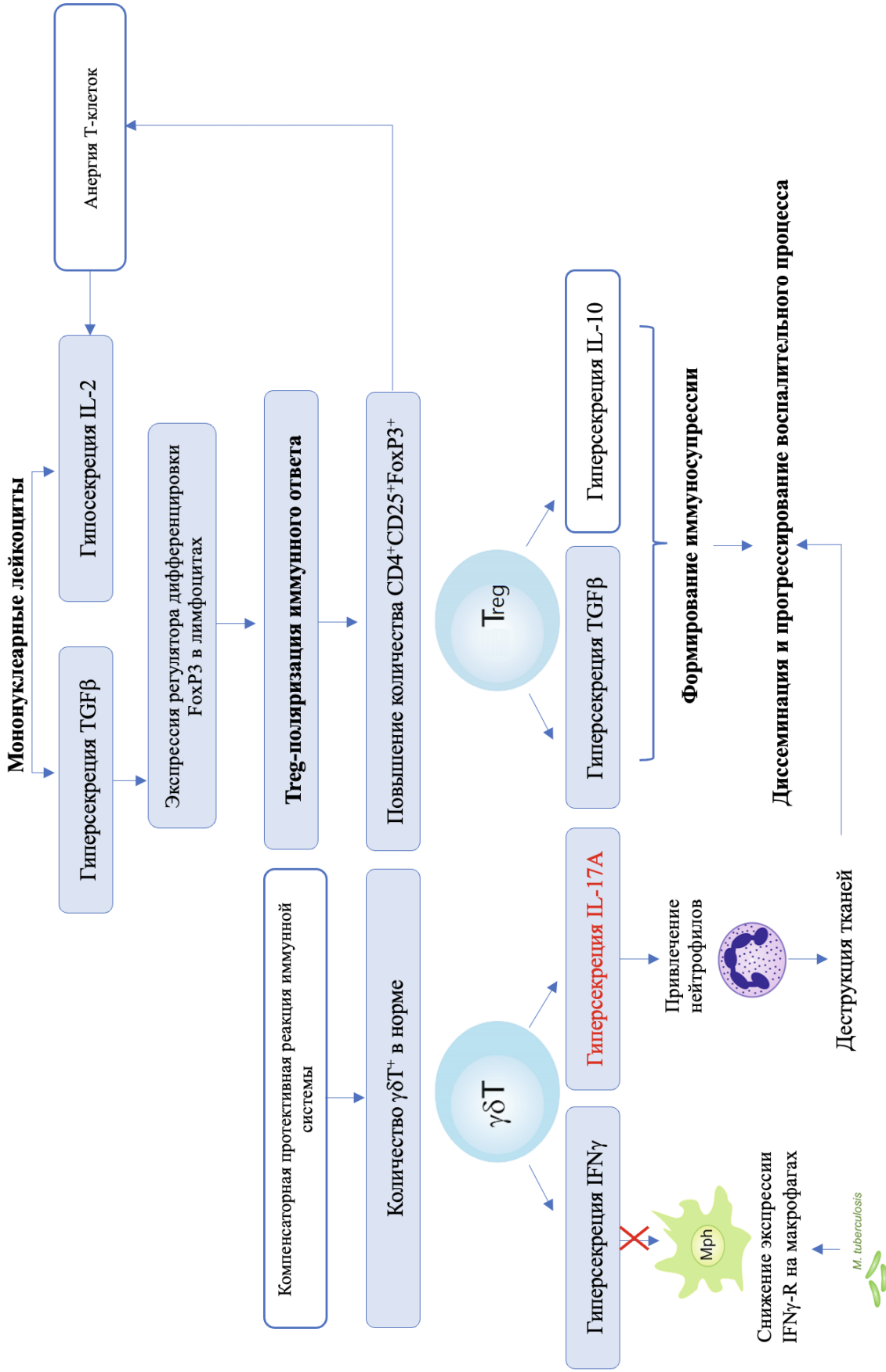


Рисунок 8 – Механизмы Treg-поляризации иммунного ответа у пациентов с диссеминированным лекарственно-устойчивым туберкулезом легких по данным литературных исследований (выделено цветом)

У пациентов с инфильтративным лекарственно-устойчивым ТЛ выявленные факторы указывали на Th17- и Th17/Th1-поляризацию иммунного ответа в сочетании с повышением их функциональной активности. Первый фактор (36,9% дисперсии матрицы) включал в себя базальную секрецию IL-1 β и IFN γ *in vitro*, содержание (абсолютное и относительное) Th17/Th1-лимфоцитов в крови; второй фактор (17,9% дисперсии матрицы) объединил показатели базальной секреции IL-2 и IL-17A *in vitro*, уровня мРНК гена *RORC2* в лимфоцитах и количества (абсолютного и относительного) Th17-лимфоцитов в крови.

Относительно пациентов с диссеминированным лекарственно-чувствительным ТЛ первым и наиболее значимым фактором (34,9% дисперсии матрицы) явился фактор, отражающий протективный потенциал $\gamma\delta$ T-лимфоцитов и сочетающий в себе базальную секрецию IL-17A, IFN γ *in vitro* и содержание (абсолютное и относительное) этих клеток в крови. При этом второй фактор (18,5% дисперсии матрицы) включал показатели Treg-поляризации – базальную секрецию TGF β *in vitro*, уровень мРНК гена фактора транскрипции FoxP3 в лимфоцитах и содержание (абсолютное и относительное) Treg-клеток в крови.

В свою очередь для пациентов с диссеминированным лекарственно-устойчивым ТЛ оба выявленных фактора обуславливали высокую долю дисперсии матрицы. Первый фактор (31,1% дисперсии матрицы) содержал показатели, отражающие Th17-поляризацию – значения базальной секреции IL-6 *in vitro*, уровня мРНК гена *RORC2* в лимфоцитах и содержания (абсолютного и относительного) Th17- и Th17/Th1-лимфоцитов в крови. Примечательно, что у данной группы обследованных лиц данные показатели были ниже либо относительно таковых в группе пациентов с инфильтративным ТЛ, либо по отношению к показателям в группе здоровых лиц. Второй фактор (29,1% дисперсии матрицы) включал показатели, отражающие Treg-поляризацию иммунного ответа, и сочетал в себе базальную секрецию TGF β *in vitro*, уровень мРНК гена *FOXP3* в лимфоцитах, относительное содержание Treg-клеток в сочетании с $\gamma\delta$ T-лимфоцитами (абсолютным и относительным) в крови.

Таким образом, на основании результатов проведенного исследования данных многофакторного анализа можно заключить, что при инфицировании *M. tuberculosis* развитие иммунопатологических реакций в организме больных ТЛ сопровождается изменением соотношения малых субпопуляций хелперных Т-клеток крови – Th17-лимфоцитов (CD4⁺CD161⁺IL-17A⁺) и Treg (CD4⁺CD25⁺FoxP3⁺). Изучение молекулярно-генетических факторов дифференцировки этих клеток позволило установить, что у пациентов с инфильтративным лекарственно-чувствительным и лекарственно-устойчивым ТЛ низкая концентрация TGF β в сочетании с гиперсекрецией IL-6 стимулируют экспрессию регулятора дифференцировки – фактора транскрипции RORC2 и способствуют развитию Th17-лимфоцитов. Нормопродукция IL-1 β и IL-23 оказывает влияние на развитие Th17-лимфоцитов, усиливая эффекты TGF β и IL-6, стабилизируя фенотип, поддерживая жизнеспособность и созревание (в случае IL-23) этих клеток. У пациентов с диссеминированным лекарственно-резистентным ТЛ поляризация иммунного ответа происходит в направлении Treg-клеток при участии TGF β . Высокий уровень секреции TGF β инициируют экспрессию регулятора дифференцировки этих клеток – фактора транскрипции FoxP3 и в условиях низкой концентрации IL-6 предрасполагает к развитию Treg-лимфоцитов. Течение лекарственно-чувствительного диссеминированного ТЛ не

сопровождается изменением численности Th17-лимфоцитов и Treg-клеток.

Повышение содержания Th17-лимфоцитов в крови при туберкулезе легких в сочетании с увеличением численности гетерогенной субпопуляции Th17/Th1-лимфоцитов ($CD4^+IL-17A^+IFN\gamma^+$ клеток у больных инфильтративным ТЛ) и гиперсекрецией их основных цитокинов – IL-17A, IL-22 и $IFN\gamma$ свидетельствует о вовлечении клеток в реализацию механизмов противотуберкулезного иммунитета. При этом снижение содержания $\gamma\delta T$ -лимфоцитов ($\gamma\delta TR^+$ клеток) в крови у этих пациентов может являться следствием их скопления в лимфоидной ткани слизистых оболочек бронхоальвеолярного тракта для осуществления защитной функции. В свою очередь у пациентов с диссеминированным ТЛ высокие концентрации IL-17A, IL-22 и $IFN\gamma$ свидетельствуют о предположительном вкладе других субпопуляций иммунокомпетентных клеток, в частности $\gamma\delta T$ -лимфоцитов, в реализацию протективных иммунных реакций.

Перспективы дальнейшего практического использования полученных результатов

Принимая во внимание тот факт, что экспансия *M. tuberculosis* и развитие клинической картины туберкулеза легких, с одной стороны, определяются биологическими особенностями возбудителя заболевания, а с другой – состоянием иммунологической реактивности организма, полученные в ходе настоящего исследования данные существенно расширяют имеющиеся представления о механизмах противотуберкулезной защиты организма. Установление вклада малых субпопуляций Т-лимфоцитов в развитие иммунопатологии и формирование протективных иммунных реакций в дальнейшем позволит рассматривать данные клеточные линии и продуцируемый ими широкий спектр цитокинов в качестве возможных диагностических маркеров иммунодефицитных состояний, сопровождающих течение инфекционного процесса, а также перспективных мишеней для разработки комплексных подходов в лечении туберкулеза легких с применением иммунотерапии (прежде всего, для пациентов, имеющих диссеминированную клиническую форму заболевания с лекарственной резистентностью *M. tuberculosis*), методов генотерапии (учитывая фенотипическую пластичность малых субпопуляций Th17-, Th17/Th1-лимфоцитов и Treg-клеток с возможностью перепрограммирования процессов дифференцировки последних для поляризации иммунного ответа в направлении Th17) и вакцин нового поколения (в том числе субъединичных вакцин), в которых в дополнение к стимуляции функциональной активности Th1-лимфоцитов осуществлялась бы активация ответа со стороны Th17-лимфоцитов, способствующая формированию наибольшей эффективности проводимой вакцинации в целях иммунопрофилактики туберкулеза легких.

ВЫВОДЫ

1. При туберкулезе легких характер дисбаланса малых субпопуляций Т-лимфоцитов крови связан с клинической формой заболевания и проявляется при инфильтративной форме (вне зависимости от лекарственной чувствительности возбудителя) увеличением количества протективных фенотипов $CD4^+CD161^+IL-17A^+$ и $CD4^+IL-17A^+IFN\gamma^+$ клеток, а при диссеминированной форме заболевания с лекарственной резистентностью возбудителя – доли $CD4^+CD25^+FoxP3^+$ клеток с иммуносупрессорной активностью.

2. У больных инфильтративным туберкулезом легких увеличение количества $CD4^+CD161^+IL-17A^+$ в крови (наибольшее в случае лекарственной устойчивости *M. tuberculosis*) обусловлено повышением экспрессии мРНК фактора транскрипции RORC2 в условиях дефицита TGF β в сочетании с гиперсекрецией IL-6 *in vitro*.
3. У больных диссеминированным лекарственно-устойчивым туберкулезом легких Treg-поляризация иммунного ответа развивается вследствие увеличения экспрессии мРНК фактора транскрипции FoxP3 в лимфоцитах на фоне гиперсекреции TGF β в сочетании с дефицитом IL-2.
4. Ведущими цитокинами, определяющими *in vitro* дифференцировку Т-лимфоцитов в направлении Th17, у пациентов с туберкулезом легких являются IL-6 (в высокой концентрации) и TGF β (в низкой концентрации) при физиологическом уровне секреции других регуляторных цитокинов – IL-1 β и IL-23.
5. Повышение базальной *in vitro* секреции Th17-цитокинов – IL-17A и IL-22 у больных туберкулезом легких (вне зависимости от клинической формы заболевания и лекарственной устойчивости *M. tuberculosis*) свидетельствует о высокой активности Th17-ассоциированных механизмов противотуберкулезной защиты организма.
6. При диссеминированном лекарственно-резистентном варианте заболевания активация секреции Th17-цитокинов компенсирует Treg-ассоциированную супрессию иммунного ответа.
7. У больных туберкулезом легких отсутствие ответной IL-17A- и IL-22-секреторной реакции клеток в ответ на дополнительную антигенную стимуляцию (BCG) указывает на истощение функционального резерва и снижение антиген-индуцированной реактивности Th17-, Th17/Th1- и $\gamma\delta$ T-лимфоцитов.
8. Увеличение численности малой гетерогенной субпопуляции Th17/Th1-лимфоцитов ($CD4^+IL-17A^+IFN\gamma^+$ клеток) в крови у больных инфильтративным туберкулезом легких взаимосвязано с повышением базальной *in vitro* секреции IFN γ при снижении содержания $\gamma\delta$ T-лимфоцитов в периферическом кровотоке.
9. Содержание $\gamma\delta$ TR-позитивных клеток в крови у пациентов с диссеминированным лекарственно-чувствительным и лекарственно-устойчивым туберкулезом легких коррелирует с базальной гиперсекрецией маркерных провоспалительных цитокинов – IL-17A и IFN γ *in vitro*.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Патология иммунного ответа при туберкулезе легких: молекулярно-генетические факторы / Уразова О.И., Есимова И.Е., Чурина Е.Г., Кононова Т.Е., Серебрякова В.А., Санина А.Е. // Сб. I Евразийского конгресса по патофизиологии, Москва, 3-4 июня 2024. **Клиническая патофизиология**. 2024. Т. 30, № 2 (прил.). С. 114-115.
2. Роль IL-23 в развитии Th17-лимфоцитов у пациентов с туберкулезом легких / Кононова Т.Е., Уразова О.И., Серебрякова В.А., Чумакова С.П., Васильева О.А., Санина А.Е. // **Туберкулез и болезни легких**. 2023. Т. 101. № 5. С. 45-50. DOI: 10.58838/2075-1230-2023-101-5-45-50 (IF РИНЦ 1,17, Scopus Q4, RSCI, Белый список: 2).

3. Роль адаптивных субпопуляций Т-лимфоцитов в патогенезе туберкулеза легких / Кононова Т.Е., Уразова О.И., Чурина Е.Г. // **Клиническая патофизиология**. 2021. Т. 27, № 3. С. 63-68.
4. Дифференцировка моноцитов крови и особенности цитокинового статуса у больных туберкулезом легких / Чурина Е.Г., Уразова О.И., Ситникова А.В., Новицкий В.В., Кононова Т.Е., Чумакова С.П., Патышева М.Р. // **Патологическая физиология и экспериментальная терапия**. 2020. Т. 64. № 4. С. 79-87. DOI: 10.25557/0031-2991.2020.04.79-87 (IF РИНЦ 0,34, RSCI, Белый список: 4).
5. Секретция цитокинов, участвующих в дифференцировке Th17-лимфоцитов / Кононова Т.Е., Уразова О.И., Новицкий В.В. // Сб. «Типовые патологические процессы: современные тренды в науке»: Материалы Всероссийской научно-практической конференции, посвященной 130-летию кафедры патофизиологии Императорского (государственного) томского университета – Томского медицинского института – Сибирского государственного медицинского университета. Томск, 20-21 мая 2020 г. С. 69-70.
6. Субпопуляционный состав IFN γ -продуцирующих Т-лимфоцитов у больных туберкулезом легких / Кононова Т.Е., Уразова О.И., Новицкий В.В., Есимова И.Е., Чурина Е.Г. // **Бюллетень экспериментальной биологии и медицины**. 2018. Т. 165. № 3. С. 281-284 / Subpopulation Structure of IFN γ -Producing T Lymphocytes in Patients with Pulmonary Tuberculosis / Kononova T.E., Urazova O.I., Novitskii V.V., Esimova I.E., Churina E.G. // *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. 2018. Vol. 165. № 3. P. 311-314. DOI: 10.1007/s10517-018-4157-z (IF РИНЦ 0,73, Scopus Q3, RSCI, Белый список: 3).
7. Цитокин-секреторная активность Т-лимфоцитов-хелперов 17 и Т-лимфоцитов-хелперов 1 / Т-лимфоцитов-хелперов 17 при туберкулезе легких / Кононова Т.Е., Уразова О.И., Новицкий В.В., Захарова П.А. // **Сибирское медицинское обозрение**. 2017. № 6. С. 57-62. DOI: 10.20333/2500136-2017-6-57-62 (IF РИНЦ 0,58, Scopus Q4, RSCI, Белый список: 4).
8. Молекулярные механизмы супрессии иммунного ответа при туберкулезе легких / Уразова О.И., Есимова И.Е., Кононова Т.Е., Захарова П.В., Колобовникова Ю.В., Чурина Е.Г. // **Медицинская иммунология**. 2017. Т. 19, № 5. С. 143-144. (IF РИНЦ 0,73, Scopus Q4, RSCI, Белый список: 3).
9. Факторы дисрегуляции иммунного ответа (на различных этапах его реализации) при туберкулезе легких / Чурина Е.Г., Уразова О.И., Новицкий В.В., Есимова И.Е., Кононова Т.Е., Филинюк О.В., Колобовникова Ю.В., Дмитриева А.И. // **Бюллетень сибирской медицины**. 2016. Т. 15. №5. С. 166-177. DOI 10.20538/1682-0363-2016-5-166–177 (IF РИНЦ 0,74, WoS Q4, Scopus Q4, RSCI, Белый список: 3).
10. Баланс Th17- и Treg-лимфоцитов в иммунопатогенезе туберкулеза легких / Кононова Т.Е., Уразова О.И., Новицкий В.В., Захарова П.А., Игнатов М.В., Чурина Е.Г., Филинюк О.В., Полетика В.С. // **Российский иммунологический журнал**. 2016. Т. 10. № 2. С. 157-158. (IF РИНЦ 0,31, Scopus Q4, RSCI, Белый список: 4).
11. Количество адаптивных субпопуляций Th-лимфоцитов (Th1, Th17, Th1/Th17) в крови при туберкулезе легких / Кононова Т.Е., Уразова О.И., Новицкий В.В.,

- Филинюк О.В. // Сб. V Конгресса Национальной ассоциации фтизиатров. Санкт-Петербург, 17-19 ноября 2016 г. С. 104-106.
12. Факторы дифференцировки Th17- и Treg-лимфоцитов при туберкулезе легких / Кононова Т.Е., Уразова О.И., Новицкий В.В., Колобовникова Ю.В., Чурина Е.Г., Захарова П.А. // **Бюллетень экспериментальной биологии и медицины**. 2015. Т. 159. № 2. С. 158-161 / Factors of Th17 and Treg Lymphocyte Differentiation in Pulmonary Tuberculosis / Kononova T.E., Urazova O.I., Novitskii V.V., Kolobovnikova Yu.V., Churina E.G., Zakharova P.A. // *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. 2015. Vol. 159. № 2. P. 201-204. DOI 10.1007/s10517-015-2922-9 (IF РИНЦ 0,73, Scopus Q3, RSCI, Белый список: 3).
 13. Экспрессия мРНК транскрипционных факторов RORC2 и FoxP3 в лимфоцитах у больных туберкулезом легких / Кононова Т.Е., Уразова О.И., Новицкий В.В., Чурина Е.Г., Захарова П.А. // **Цитология**. 2015. Т. 57. №1. С. 56-61. DOI 10.1134/S1990519X15030062 (IF РИНЦ 0,56, Scopus Q4, RSCI, Белый список: 3).
 14. Экспрессия генов транскрипционных факторов Th17- и Treg-лимфоцитов при туберкулезе легких / Захарова П.А., Кононова Т.Е., Уразова О.И., Новицкий В.В., Чурина Е.Г. // **Медицинская иммунология**. 2015. Т. 17, Специальный выпуск. С. 134-135. (IF РИНЦ 0,73, Scopus Q4, RSCI, Белый список: 3).
 15. Роль гамма-дельта-T-клеток в иммунном ответе на *Mycobacterium tuberculosis* / Чурина Е.Г., Уразова О.И., Новицкий В.В., Кононова Т.Е. // **Туберкулез и болезни легких**. 2014. № 3. С. 59-63 (IF РИНЦ 1,17, Scopus Q4, RSCI, Белый список: 2).
 16. Роль Th17-лимфоцитов в противотуберкулезном иммунитете / Кононова Т.Е., Уразова О.И., Новицкий В.В. // Сб. Материалы III конгресса национальной ассоциации фтизиатров. – Санкт-Петербург, 27-29 ноября 2014. С. 0122. **Медицинский альянс**. 2015. № 1. С. 67-68 (IF РИНЦ 0,48).
 17. Факторы, определяющие дифференцировку Th17-лимфоцитов при туберкулезе легких / Полетика В.С., Кононова Т.Е., Уразова О.И., Новицкий В.В. // Сб. «Актуальные проблемы патофизиологии – 2014»: Материалы юбилейной XX всероссийской конференции молодых ученых с международным участием. Санкт-Петербург, 9-10 апреля 2014. С. 86-87.
 18. Функциональная активность Th17-лимфоцитов при туберкулезе легких / Кононова Т.Е., Уразова О.И., Новицкий В.В., Чурина Е.Г., Колобовникова Ю.В., Игнатов М.В., Захарова П.А., Печенова О.В. // **Бюллетень экспериментальной биологии и медицины**. 2013. Т. 156. № 12. С. 701-704 / Functional Activity of Th-17 Lymphocytes in Pulmonary Tuberculosis / Kononova T.E., Urazova O.I., Novitskii V.V., Churina E.G., Kolobovnikova Yu.V., Ignatov M.V., Zakharova P.A., Pechenova O.V. // *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. 2014. Vol. 156. № 6. P. 743-745. DOI 10.1007/s10517-014-2438-8 (IF РИНЦ 0,73, Scopus Q3, RSCI, Белый список: 3).
 19. Опосредованная T-лимфоцитами-хелперами типа 17 регуляция антибактериального (противотуберкулезного) иммунитета / Кононова Т.Е., Уразова О.И., Новицкий В.В., Чурина Е.Г. // **Молекулярная биология**. 2013. Т. 47. № 6. С. 883-890. DOI 10.7868/S0026898413050087 / Regulation of Antibacterial (Antitubercular) Immunity Mediated by T-Helper Type-17 Lymphocytes / Kononova T.E., Urazova O.I., Novitskii V.V., Churina E.G. // *Molecular Biology*. 2013. Vol. 47. № 6. P. 769–775. DOI

- 10.1134/S0026893313050087 (IF РИНЦ 1,2, Scopus Q3, RSCI, Белый список: 3).
20. Иммуносупрессорные эффекты регуляторных Т-лимфоцитов крови при диссеминированном туберкулезе легких с множественной лекарственной устойчивостью *M. tuberculosis* / Чурина Е.Г., Уразова О.И., Новицкий В.В., Кононова Т.Е. // **Бюллетень сибирской медицины**. 2013. Т. 12. № 1. С. 143-146. (IF РИНЦ 0,74, WoS Q4, Scopus Q4, RSCI, Белый список: 3).
 21. Количество Т-лимфоцитов-хелперов типа 17 при туберкулезе легких / Кононова Т.Е., Уразова О.И., Новицкий В.В., Колобовникова Ю.В., Игнатов М.В., Захарова П.А. // Сб. статей «Высокие технологии, фундаментальные и прикладные исследования в физиологии и медицине»: Материалы пятой международной научно-практической конференции. Санкт-Петербург, 14-15 ноября 2013. С. 54-56.
 22. Изменение секреции IL-17A лимфоцитами периферической крови при туберкулезе легких / Чинахова Е.Д., Уразова О.И., Кононова Т.Е. // Сб. статей «Медицина: актуальные вопросы и тенденции развития»: Материалы III Международной научно-практической конференции. Краснодар, 24 декабря 2013. С. 116-118.
 23. Секреторная активность Th17-лимфоцитов при туберкулезе легких / Игнатов М.В., Кононова Т.Е., Уразова О.И., Новицкий В.В., Писаренко М.С., Захарова П.А. // Сб. «Актуальные проблемы патофизиологии»: Материалы XIX межгородской конференции молодых ученых. Санкт-Петербург, 10-11 апреля 2013. С. 51-52.
 24. Особенности иммунных реакций у больных лекарственно-устойчивым туберкулезом легких / Кононова Т.Е., Уразова О.И., Новицкий В.В., Чурина Е.Г., Игнатов М.В. // **Бюллетень сибирской медицины**. 2012. Т. 11. № 4. С. 160-162. (IF РИНЦ 0,74, WoS Q4, Scopus Q4, RSCI, Белый список: 3).
 25. Роль регуляторных Т-клеток и эозинофилов в механизмах модуляции иммунного ответа при туберкулезе легких / Новицкий В.В., Чурина Е.Г., Уразова О.И., Колобовникова Ю.В., Кононова Т.Е., Воронкова О.В. // **Иммунология**. 2012. Т. 33. № 4. С. 184-188. (IF РИНЦ 2,042, Scopus Q4, RSCI, Белый список: 3).
 26. Функциональная активность регуляторных Т-клеток у больных туберкулезом легких с отрицательной реакцией на пробу Манту / Новицкий В.В., Чурина Е.Г., Уразова О.И., Наследникова И.О., Кононова Т.Е., Некрасов Е.В. // **Туберкулез и болезни легких**. 2012. № 5. С. 20-26. (IF РИНЦ 1,17, Scopus Q4, RSCI, Белый список: 2).
 27. Субпопуляционный состав регуляторных Т-клеток и секреция противовоспалительных цитокинов у больных туберкулезом легких / Кононова Т.Е., Чурина Е.Г., Уразова О.И., Игнатов М.В. // Сб. «Актуальные проблемы патофизиологии»: Материалы XVIII межгородской конференции молодых ученых. Санкт-Петербург, 25-26 апреля 2012. С. 71-72.
 28. Иммунный сигналинг: роль в патогенезе противотуберкулезной защиты / Уразова О.И., Серебрякова В.А., Санина А.Е., Есимова И.Е., Чурина Е.Г., Колобовникова Ю.В., Кононова Т.Е., Воронкова О.В., Никулина Е.Л. // В кн.: Фундаментальные исследования во фтизиатрии II / под ред. А.Э. Эргешева. М.: Центральный научно-исследовательский институт туберкулеза, 2024. 180 с. ISBN 978-5-9907563-6-6.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

ЛУ	–	лекарственно-устойчивый
ЛЧ	–	лекарственно-чувствительный
ПЦР	–	полимеразная цепная реакция
ТЛ	–	туберкулез легких
BCG (<i>Bacillus Calmette–Guérin</i>)	–	вакцинный штамм БЦЖ
CXCL	–	C-X-C motif Chemokine Ligand – хемокин семейства CXС
FoxP3	–	Forkhead Box P3 – белок скурфин, фактор транскрипции
GM-CSF	–	колониестимулирующий фактор гранулоцитов и макрофагов
$\gamma\delta$ TCR	–	$\gamma\delta$ T-Cell Receptor – $\gamma\delta$ T-клеточный рецептор
IFN	–	Interferon – интерферон
IL	–	Interleukin –интерлейкин
IL-6R α	–	Interleukin 6 receptor α – α -цепь рецептора для IL-6
IL-23R	–	Interleukin 23 receptor – рецептор для IL-23
MHC	–	Major Histocompatibility Complex – главный комплекс гистосовместимости
<i>M. tuberculosis</i>	–	<i>Mycobacterium tuberculosis</i> – микобактерия туберкулеза
ROR	–	Retinoic acid receptor-related orphan receptor – рецепторы-сироты родственные ретиноидным, фактор транскрипции
STAT	–	Signal Transducer and Activator of Transcription – трансдуктор сигнала и активатор транскрипции
Th	–	T-helper – Т-лимфоцит-хелпер
TGF	–	Transformed Grows Factor – трансформирующий фактор роста
TNF	–	Tumor Necrosis Factor – фактор некроза опухоли
Treg	–	Regulatory T Lymphocyte – регуляторный Т-лимфоцит